

Обзорная статья

<https://doi.org/10.36233/0372-9311-219>

Детерминанты устойчивости *Francisella tularensis* к стрессовым условиям окружающей среды

Борисова С.В.[✉], Волох О.А.

Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, Саратов, Россия

Аннотация

В обзоре обобщены современные данные литературы об основных структурах и антигенах туляремийного микроба, ответственных за адаптацию внутри теплокровного макроорганизма-хозяина (чувствительные животные, человек). Для успешного выживания *Francisella tularensis* в условиях стресса требуется взаимодействие всех клеточных структур микроба. Несмотря на активные исследования, проводимые в области изучения детерминант и механизмов устойчивости *F. tularensis*, причина высокой адаптационной способности при низкой изменчивости возбудителя туляремии не установлена. Эти исследования важны для понимания механизмов персистенции и вирулентности *F. tularensis*, а также для дальнейшей разработки вакцин и диагностических препаратов.

Ключевые слова: *Francisella tularensis*, стресс-белки, везикулы, капсулоподобный комплекс, адаптация, устойчивость, стресс-условия

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Для цитирования: Борисова С.В., Волох О.А. Детерминанты устойчивости *Francisella tularensis* к стрессовым условиям окружающей среды. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2022;99(3):362–371. DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-219>

Original article

<https://doi.org/10.36233/0372-9311-219>

Determinants of resistance of *Francisella tularensis* to environmental stress

Svetlana V. Borisova[✉], Oksana A. Volokh

Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov, Russia

The review summarizes current literature data on the main structures and components of the tularemia microbe responsible for adaptation to the warm-blooded host macroorganism (susceptible animals, humans). According to scientific data, the successful survival of *Francisella tularensis* under stress conditions requires the interaction of all cellular structures of the microbe. Despite active research carried out in the field of studying the determinants and mechanisms of *F. tularensis* resistance, the reason for the high adaptive capacity with low variability of the tularemia pathogen has not been established. These studies are important for understanding the mechanisms of persistence and virulence of *F. tularensis*, as well as for further development of vaccines and diagnostic tests.

Keywords: *Francisella tularensis*, stress proteins, vesicles, capsule-like complex, adaptation, resistance, stress conditions

Funding source. This study was not supported by any external sources of funding.

Conflict of interest. The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

For citation: Borisova S.V., Volokh O.A. Determinants of resistance of *Francisella tularensis* to environmental stress. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology = Zhurnal mikrobiologii, èpidemiologii i immunologii*. 2022;99(3):362–371.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-219>

Введение

Возбудитель туляремии — *Francisella tularensis* имеет широкий спектр экологических резервуаров с большим количеством потенциальных хладнокровных (членистоногих и пресноводных простейших) и теплокровных (грызунов и других млекопитающих, включая человека) хозяев, что указывает на хорошую адаптивность бактерии [1]. *F. tularensis* может длительное время сохраняться в воде и вызывать заболевание у ондатр, водных полёвок и бобров [2]. Бактерии *F. tularensis* способны переживать неблагоприятные условия в амёбах и других простейших [3]. Факторы, активирующие персистенцию возбудителя, присутствуют во внешней среде, что указывает на возможность выживания организма в водно-грязевых суспензиях [4].

Между вспышками туляремии микроб может сохраняться в окружающей среде в неактивном состоянии практически без репликации [5, 6]. Бактерия переходит в инфекционное, жизнеспособное, но «некультивируемое» состояние. При этом она всё ещё способна переходить в вирулентные формы при изменении условий существования. Этим объясняется идентичность генотипа возбудителя туляремии при возникновении вспышки через десятилетия. Реверсия некультивируемых форм *F. tularensis* в исходное состояние осуществляется с помощью чувствительных животных. По мнению Л.В. Романовой и соавт., такое состояние следует рассматривать как фактическую форму существования возбудителя туляремии в почвенных и водных экосистемах [7]. Ревертанты некультивируемых форм туляремии микроба восстанавливают свои основные свойства, в том числе вирулентность. Определено, что возбудитель туляремии наделен важной для персистенции адаптивной пластичностью, проявляющейся в его адекватной реакции на стрессовые факторы окружающей среды [7].

В чувствительном макроорганизме возбудитель туляремии способен проникать, выживать и размножаться в широком спектре клеток-хозяев, включая макрофаги и дендритные клетки [8, 9]. Бактерии *F. tularensis* «включают» ряд адаптационных механизмов, которые позволяют им выжить в агрессивных условиях макроорганизма хозяина, характеризующихся высокой температурой, присутствием активных форм кислорода, низким уровнем рН, недостатком железа и ограничениями в питательных веществах.

Цель данной работы — обобщение данных о детерминантах адаптации *F. tularensis* внутри макроорганизма, их структурно-функциональных характеристиках и взаимодействии друг с другом.

Капсулоподобный комплекс

В организме теплокровного хозяина *F. tularensis* размножается внутриклеточно, имея при этом

длительную внеклеточную фазу [10, 11], что облегчает распространение. Во время этой фазы микроб подвергается воздействию различных антибактериальных факторов: система комплемента, антитела, фагоциты. Всё это препятствует распространению бактерии [12]. *F. tularensis*, как и другие патогенные микроорганизмы, по некоторым данным, окружена капсулой, которая ограничивает доступ иммунных эффекторов к мембране бактерии [13]. Внутриклеточная среда макрофага является триггером к образованию электронно-плотного капсульного вещества толщиной 50–250 нм, которое исчезает при выходе из фагосомы [14]. I. Golovliov и соавт. выдвинули гипотезу о том, что как только *F. tularensis* переходит внутрь эндосомы или фагосомы, некоторые компоненты капсулоподобного комплекса (КПК) быстро высвобождаются, что приводит к деградации мембраны [15]. КПК не образуется при росте вне макрофагов, что, скорее всего, связано с отсутствием активирующих образование капсулы условий [16]. Однако А.В. Vandara и соавт. показали, что культивирование в сердечно-мозговом бульоне с добавлением глюкозы, галактозы или маннозы активировало усиленный синтез КПК [17]. Гипертрофированная капсула увеличивает вирулентность *F. tularensis* LVS в отношении мышей.

КПК является гетерогенным комплексом гликопротеинов, белков и, возможно, везикул и тубул [14]. В отличие от большинства бактериальных капсул, всего 10% КПК составляют углеводы: глюкоза, галактоза и манноза. Преимущественно капсула состоит из множества протеиназаустойчивых белков, гликопротеинов и высокомолекулярных гликопротеинов с молекулярной массой 150–250 кДа [17]. За образование КПК у *F. tularensis* отвечает ген *capB*, который имеет сходство с таковым у *Bacillus anthracis*, кодирующим белки капсулы поли-D-глутаминовой кислоты [18]. Делеция данного гена снижает вирулентность *F. tularensis*, а вакцинация мутантным штаммом индуцирует защиту у мышей от заражения капсульным штаммом [19].

При подробном анализе капсулы *F. tularensis* был обнаружен полисахарид, идентичный субъединице О-антигена липополисахарида. Структурный состав О-антигена был экспериментально установлен для большинства подвидов *F. tularensis* [20]. Потеря О-антигена снижает вирулентность *F. tularensis* для мышей, но выработанные антитела после заражения таким штаммом обеспечивают защиту от заражения другими штаммами туляремии микроба [21]. За выработку О-антигена отвечает ген *wbtA*. Его инактивация приводит к полной потере О-антигена, повышению чувствительности к специфической сыворотке, нарушению внутриклеточной репликации и сильному ослаблению вирулентности в мышцах. Примечательно, но этот мутант всё ещё обеспечивает защиту от заражения *F. tularensis* LVS

[22]. Поскольку О-антиген тесно связан с капсулой *F. tularensis*, делеция генов, кодирующих гликозилтрансферазы О-антигена, блокируют биосинтез О-антигена и капсулы. В то же время мутации в генах, кодирующих полимеразу О-антигена или ацилтрансферазу, предотвращали только синтез О-антигена, но не капсулы. У *F. tularensis* SCHU S4 был идентифицирован локус, который не связан с локусом О-антигена, но необходим для биосинтеза О-антигена и капсулы. Мутации в любом из трех генов в этом локусе приводили к потере обеих структур и, следовательно, к повышению чувствительности к специфической сыворотке. Кроме того, мутанты быстрее атаковались макрофагами и имели сниженный внутриклеточный рост [23].

Локализация антигенных детерминант (липополисахаридов, белков наружных мембран) на поверхности клеток *F. tularensis*, формирующих его характерную полиэпитопную антигенную структуру, а также данные о высокой протективной активности субклеточных фракций и белков наружных мембран грамотрицательных бактерий [24] обуславливают возможность их использования при создании безопасных, эффективных и специфичных иммунопрофилактических и диагностических средств.

Таким образом, можно заключить, что:

1. КПК — это гетерогенный комплекс, объединяющий гликопротеины, полисахариды и белки.
2. КПК имеется у всех подвидов *F. tularensis*.
3. КПК образуется при попадании в макрофаг, защищая бактерию от окислительного стресса в фагосоме.

Везикулы

Значительную роль во взаимодействии *F. tularensis* с клетками-хозяевами и с иммунной системой играют везикулы внешней мембраны (outer membrane vesicles — OMV). Это двуслойные мембранные частицы небольшого размера (20–300 нм), образованные путём инкапсуляции периплазмы с содержащимися частью внешней мембраны [25]. Везикулы выполняют множество функций в образе жизни бактерий, главными из которых являются реализация своих защитных механизмов и поддержание жизнеспособности при дальнейшем инфицировании клеток хозяев. Высвобождение OMV является альтернативным способом секреции белков, в том числе ответственных за адаптацию к стрессу [26]. Таким образом, OMV действуют как система секреции, которая способствует колонизации и распространению бактерии. Несмотря на долгую историю исследований OMV, неизвестно, является ли их продукция неспецифическим побочным продуктом роста или регулируемым явлением, и возможные механизмы, позволяющие специфически нацели-

вать белки, такие как факторы вирулентности, ещё предстоит определить.

F. tularensis реплицируется внутри широкого спектра клеток-хозяев, преимущественно используя для этих целей макрофаги. А способность *F. tularensis* образовывать везикулы с целью противодействовать защитным механизмам хозяина, имеет решающее значение для её выживания и вирулентности. Строение OMV *F. tularensis* отличается от таковых у других микроорганизмов. Установлено, что OMV, продуцируемые в *F. novicida* [27] и *F. tularensis* SchuS4 [28], имеют необычную нанотрубчатую форму, содержащую факторы вирулентности и иммунореактивные белки. Протеомный анализ везикул выявил наличие многих известных антигенов (около 520) и факторов вирулентности *F. tularensis* [29]. Поскольку известно, что OMV продуцируются в течение первого часа после попадания *F. tularensis* в клетку-хозяина, предполагается, что они могут рассматриваться в качестве фактора вирулентности во время инвазии клеток-хозяев [15, 27].

Другой функцией везикул является защита *F. tularensis* от стрессового воздействия в макрофагах. При созревании фагосомы в фаголизосоме падает pH, активируя протеолитические ферменты и способствуя образованию активных форм кислорода [30]. *F. tularensis* предотвращает окисление и созревание фагосомы и через 1–4 ч выходит в цитозоль клетки-хозяина, где реплицируется и активирует гибель макрофага [31]. Высвобождение OMV увеличивается в ответ на стресс окружающей среды и условий, которые дестабилизируют бактериальную оболочку или приводят к накоплению развёрнутых белков [29]. Доказано, что везикулы возбудителя туляремии отвечают за реакцию на окислительный стресс, низкий pH, высокую (42°C) и низкую (25°C) температуру. Так, при повышении температуры и снижении pH скорость везикуляции многократно увеличивается [32]. Делеция гена, отвечающего за утилизацию железа (*fupA/B*), привела к повышению секреции OMV и усиленному образованию биоплёнки. Это связано с тем, что делеция *fupA/B* связана с нестабильностью внешней мембраны, что воспринимается клеткой как стресс-условие [33].

В регуляции продукции везикул *F. tularensis* участвуют четыре гена: *fumA*, *tktA*, *FTN_0908* и *FTN_1037*. Первые два задействованы в центральном метаболизме углерода, в то время как два других имеют неизвестную функцию. Триггером активации везикуляции является снижение цистеина в окружающей среде. Таким образом, аминокислотное голодание является общим сигналом, регулирующим выработку везикул [28].

OMV образуются и вне клеток-хозяев. При культивировании в жидкой питательной среде продукция везикул увеличивается при переходе из экс-

пониженной фазы роста в стационарную, а их содержание имеет различный белковый профиль. Данная особенность позволяет предположить, что их функция может изменяться в зависимости от фазы роста [29]. Кроме того, продукция везикул у *F. tularensis* очень чувствительна к составу питательной среды. К.Р. Hazlett и соавт. [34] показали, что белковый профиль OMV *F. tularensis*, выращенного в сердечно-мозговом бульоне, очень похож на профиль везикул *F. tularensis*, выделенных из инфицированных макрофагов.

Таким образом, можно сделать следующие выводы:

1. OMV могут быть вовлечены в защиту от вредных воздействий внутри фагосомы, таких как активные формы кислорода.
2. Генерация и высвобождение большого количества мембранных структур может защитить бактерии от мембранно-активных молекул, таких как антимикробные пептиды.
3. OMV могут играть роль в доставке эффекторных молекул в клетку-хозяина во время инфекции для манипулирования их реакциями.

Стресс-белки

Координация экспрессии стресс-белков осуществляется островом патогенности *F. tularensis* — FPI [35] и производится тремя ключевыми белками-регуляторами, называемыми MglA, SspA и pIgR (также известный как FevR). Первые два являются членами семейства белков строгого голодания и образуют гетеромерный комплекс, связанный с РНК-полимеразой [36]. Белок *F. tularensis* MglA (Mutual gliding-motility protein) влияет на экспрессию более 100 генов и белков, координирует реакцию туляремийного микроба на стресс и необходим для выживания бактерий в суровых условиях. Этот главный транскрипционный регулятор связывается с SspA (stringent starvation protein A), образуя гетеродимер, способный взаимодействовать с РНК-полимеразой, и стабильность которого тесно связана с неорганическим полифосфатом. Делеция гена, кодирующего белок MglA, понижает жизнеспособность *F. tularensis* и повышает восприимчивость к супероксид-аниону, катализатором которого является паракват. При этом повышается устойчивость к воздействию H_2O_2 [37].

Белки окислительного стресса

Попадая в макрофаг, *F. tularensis* подвергается окислительному стрессу, который подавляет, выделяя серию кислых фосфатаз, таких как AspA, -B, -C и NapA. Мутанты, у которых произошла делеция кислых фосфатаз, были более восприимчивы к атакам макрофагов и выходили из фагосом позже [38]. Однако механизм секреции кислых фосфатаз у *F. tularensis* до сих пор неизвестен [39].

Помимо кислых фосфатаз, которые выделяются в ответ на снижение pH, у *F. tularensis* был обнаружен протеин 14,7 кДа, кодируемый геном *FTN_1133*, являющийся белком устойчивости к H_2O_2 . Он имеет сходство с органическим белком устойчивости к гидропероксидам Ohr — ферментом, участвующим в реакции бактерий на окислительный стресс, и вовлечен в детоксикацию органических перекисей. Показано, что ген *FTN_1133* необходим для устойчивости к органическим гидропероксидам и их деградации, а также устойчивости к действию НАДФН-оксидазы в макрофагах. Делеционный мутант *FTN_1133 F. tularensis* LVS обладал уменьшенной скоростью деления как в питательной среде, так и в макрофагах. Кроме того, делеция *FTN_1133* приводила к снижению вирулентности у мышей [40].

Белок OxyR также является продуктом реакции на окислительный стресс. Он активируется, когда экзогенный H_2O_2 накапливается до 0,2 мкМоль в цитоплазме [41], после чего стимулирует транскрипцию генов 128 белков. Активируемые белки делятся на три категории: белки, которые снижают концентрацию H_2O_2 , белки, которые снижают концентрацию железа, и белки, которые устраняют повреждение, вызываемые H_2O_2 . Например, продукция каталазы KatG, супероксиддисмутаза SodB и SodC, пероксидазы AhpC возрастает более чем в 10 раз, чтобы противостоять окислительному стрессу, генерируемому внутри клетки-хозяина [42, 43]. Все они активно секретируются как во внеклеточную среду, так и в цитозоль инфицированных макрофагов [44]. Экспрессия этих первичных антиоксидантных генов начинается сразу после фагоцитоза *F. tularensis* и не снижается во время фагосомальной и цитозольной фаз, что позволяет предположить, что туляремийный микроб испытывает окислительный стресс во всех фазах [45]. Всё это повышает устойчивость к активным формам кислорода, тем самым способствуя внутриклеточному выживанию микроорганизма и повышая его вирулентность у мышей [37].

Железо-ассоциированные белки

Снижение количества доступного железа является важной частью системы защиты организма-хозяина. Для патогенов важно обойти это, и они разработали различные стратегии, такие как использование сидерофоров, которые являются высокоаффинными хелаторами железа, синтезируемыми в ответ на ограничение Fe^{2+} [46]. Одним из таких сидерофоров у *F. tularensis* является ризоферрин. Он содержит два цитратных фрагмента, связанных амидными связями с путресциновой основой. Гены синтеза и транспорта ризоферрина *F. tularensis* расположены на сидерофорном опероне *fsIABCDEF* [47]. Помимо оперона *fsIABCDEF*, накоплению и утилизации железа могут способ-

ствовать транспортные белки FeoA и FeoB. Данная система является единственным переносчиком двухвалентного железа через внутреннюю мембрану у *F. tularensis* [48].

С другой стороны, поглощение железа патогенами должно чётко регулироваться, т.к. избыток железа усиливает токсичность H_2O_2 , генерируя высокореактивные гидроксильные радикалы и анионы [49]. Бактериоферритин (Bfr) действует как белок-накопитель железа и может играть роль в защите от повреждающих клетки свободных радикалов, образующихся из кислорода в присутствии свободного железа. Мутантный штамм *Δbfr* был гораздо менее жизнеспособен в сравнении с родительским штаммом. Это связано с тем, что в отсутствие Bfr внутриклеточные уровни железа повышены, что может привести к увеличению количества железа и, следовательно, к повышению токсичности H_2O_2 для клеток [50]. Комплекс Bfr-O, состоящий из Bfr и O-антигена, обладает высокой иммуногенной активностью и защищает белых мышей при подкожном заражении вирулентным штаммом *F. tularensis* subsp. *holarctica* 503/840 [51].

Белки температурного стресса

Поскольку большую часть жизненного цикла *F. tularensis* проводит внутри млекопитающих хозяев, адаптация к повышенным температурам является залогом успешного выживания. В ходе эволюции *F. tularensis* обрела уникальный σ^{32} (или *RpoH*) фактор. Он является основным регулятором, который контролирует транскрипцию генов во время теплового шока и некоторых других общих стрессовых состояний. Экспрессия многих генов, кодирующих белки теплового шока, таких как *Hsp40*, *GroEL*, *GroES*, *DnaK*, *DnaJ*, *GrpE*, *ClpB*, *ClpX*, *ClpP* и *HtpG*, находится под его контролем. Так, при добавлении данного фактора в избыточном количестве в клетку экспрессия белков-шаперонов теплового стресса увеличивается в 2 раза [52].

Один из белков-шаперонов, ClpB, выполняет свою роль путём дезагрегирования и реактивации сильно агрегированных белков в сотрудничестве с системой шаперонов DnaK. Данный комплекс является консервативным и обладает устойчивостью только к экстремальным температурам (до 50°C) в течение длительного времени, что позволяет *F. tularensis* активно размножаться в макрофагах теплокровных животных. При этом ClpB-DnaK не участвует в ответе на окислительный стресс. Моделирование работы комплекса *in silico* показало, что мутация одного из участков DnaK сделала бактерию чрезвычайно восприимчивой к тепловому шоку, но не оказала никакого влияния на вирулентность. Напротив, удаление N-конца ClpB лишь незначительно повлияло на реакцию теплового шока, но сильно снизило вирулентность [53].

Другим известным комплексом белков-шаперонов является GroE/GroES. Эти белки отвечают как на тепловой, так и на перекисный стресс. М. Ericsson и соавт. определили, что повышение температуры с 37 до 42°C и воздействие 5 мМоль перекиси водорода вызывали увеличение синтеза данного комплекса [54]. Способность реагировать на перекись водорода синтезом шаперонов может иметь основополагающее значение для внутриклеточного выживания *F. tularensis*, которые подвергаются окислительному стрессу при проникновении в макрофаги хозяина. При стрессовом ответе на повышение температуры GroE выделяется в окружающую среду [55].

Немаловажными детерминантами вирулентности являются системы секреции типа VI (T6SS). Они обнаружены у многих грамотрицательных патогенов, включая *F. tularensis*. Это комплекс субъединиц, который работает по принципу шприца или гарпуна и выбрасывает токсичные белки в цитоплазму клетки, захватившей бактерию [56]. После попадания в макрофаг возбудитель туляремии с помощью системы секреции VI типа выходит из фагосом. Некоторые белки до того, как были обнаружены в составе T6SS, изучались как эффекторные белки. Например, белок IglC2 индуцируется бактериями внутрь макрофагов в условиях окислительного стресса [57].

В последнее время интенсивно развивается направление по изучению антигенов, выделяемых в среду культивирования в процессе роста микроорганизма. Установлено, что в составе белков, выделяемых *F. tularensis*, содержатся белок теплового шока 65 кДа, GroEL и ферменты: супероксиддисмутаза, щелочная гидропероксидредуктаза, каталаза-пероксидаза. Был выделен полипептид, синтезируемый при стрессовом ответе на повышение температуры. По ряду признаков (индукция в условиях стрессового ответа, масса субъединиц, полиморфное строение, морфология при электронной микроскопии) данный полипептид был идентифицирован как стрессовый белок-шаперон GroEL. Показано, что подобные белки вызывали значительный клеточно-опосредованный иммунный ответ у мышей, инфицированных штаммом *F. tularensis* LVS [58]. Моделирование условий внутриклеточной среды и культивирование штаммов-продуцентов *F. tularensis* позволит получить такие антигены с целью их применения в качестве иммуногенов для изучения их воздействия на организм хозяина.

Таким образом, можно сделать следующие выводы:

1. Экспрессия большинства стресс-белков регулируется путём взаимодействия трех белков-регуляторов: MglA, SspA и PlgR.
2. Степень экспрессии и активности белков теплового шока регулируется уникальным для *F. tularensis* σ^{32} -фактором.

3. Стресс-белки, выделяемые во внеклеточное пространство, являются иммунореактивными, что позволяет использовать их в качестве компонентов для диагностических и профилактических препаратов.

Заключение

Анализ данных литературы (таблица) показал, что в процессе внутриклеточного цикла *F. tularensis* адаптируется за счёт специфичных детерминант устойчивости. Все они играют важную и взаимодополняющую роль в устойчивости *F. tularensis* к стрессовым условиям внутри макроорганизма. Благодаря активному изучению стрессовых условий *in vivo* стала возможной их имитация *in vitro*. Это позволяет проводить анализ изменения протеома *F. tularensis*, в частности, продукции иммунореактивных белков-шаперонов, везикул и О-антигена. Эти исследования подчёркивают потенциальную возможность применения антигенов *F. tularensis* в качестве диагностических и профилактических препаратов. Дальнейшие исследования приспособления *F. tularensis* к большому разнообразию клеток хозяев: млекопитающих, членистоногих и простейших, будут способствовать пониманию внутриклеточных и внеклеточных механизмов адаптации возбудителя.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Попова А.Ю., Мефодьев В.В., Степанова Т.Ф., Ежлова Е.Б., Демина Ю.В., Марченко А.Н. *Эпидемиология и профилактика туляремии на эндемичных территориях России: монография*. Тюмень; 2016.
2. Олсуфьев Н.Г., Дунаева Т.Н. *Природная очаговость, эпидемиология и профилактика туляремии*. М.: Медицина; 1970.
3. Hennebique A., Peyroux J., Brunet C., Martin A., Henry T., Knezevic M., et al. Amoebae can promote the survival of *Francisella* species in the aquatic environment. *Emerg. Microbes Infect.* 2021; 10(1): 277–90. <https://doi.org/10.1080/22221751.2021.1885999>
4. Мещерякова И.С. Туляремия. В кн.: *Природная очаговость болезней: Исследования института им. Н.Ф. Гамалеи РАМН*. М.; 2003: 137–60.
5. Telford S.R. 3rd, Goethert H.K. Ecology of *Francisella tularensis*. *Annu. Rev. Entomol.* 2020; 7(65): 351–72. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-011019-025134>
6. Thelaus J., Andersson A., Broman T., Bäckman S., Granberg M., Karlsson L., et al. *Francisella tularensis* subspecies holarctica occurs in Swedish mosquitoes, persists through the developmental stages of laboratory-infected mosquitoes and is transmissible during blood feeding. *Microb. Ecol.* 2014; 67(1): 96–107. <https://doi.org/10.1007/s00248-013-0285-1>
7. Романова Л.В., Мишанькин Б.Н., Пичурин Н.Л., Саямов С.Р., Водопьянов С.О. Некультивируемые формы *Francisella tularensis*. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2000; 77(2): 11–5.
8. Celli J., Zahrt T.C. Mechanisms of *Francisella tularensis* intracellular pathogenesis. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* 2013; 3(4): a010314. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a010314>
9. Radlinski L.C., Brunton J., Steele S., Taft-Benz S., Kawula T.H. Defining the metabolic pathways and host-derived carbon

Механизмы адаптации *Francisella tularensis* к стрессовым условиям макроорганизма
Mechanisms of adaptation of *Francisella tularensis* to stressful conditions of the macroorganism

Функции Functions	Источники Reference
Фактор вирулентности Virulence factor	8, 14, 15, 17, 19, 27, 51
Адаптация к температурному стрессу Thermal stress adaptation	32, 52, 53, 54
Адаптация к окислительному стрессу Oxidative stress adaptation	28, 32, 40, 41, 42, 43, 45, 56, 57
Адаптация к дефициту питательных веществ и железа Adaptation to nutrient and iron deficiency	36, 47, 48
Адаптация к выходу из фагосомы в цитозоль Adaptation to release from the phagosome into the cytosol	15, 16, 24, 26, 33, 38, 51, 56

- substrates required for *Francisella tularensis* intracellular growth. *mBio*. 2018; 9(6): e01471-18. <https://doi.org/10.1128/mbio.01471-18>
10. Forestal C.A., Malik M., Catlett S.V., Savitt A.G., Benach J.L., Sellati T.J., et al. *Francisella tularensis* has a significant extracellular phase in infected mice. *J. Infect. Dis.* 2007; 196(1): 134–7. <https://doi.org/10.1086/518611>
 11. Yu J.J., Raulic E.K., Murthy A.K., Guentzel M.N., Klose K.E., Arulanandam B.P. The presence of infectious extracellular *Francisella tularensis* subsp. novicida in murine plasma after pulmonary challenge. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 2008; 27(4): 323–5. <https://doi.org/10.1007/s10096-007-0434-x>
 12. Bradford M.K., Elkins K.L. Immune lymphocytes halt replication of *Francisella tularensis* LVS within the cytoplasm of infected macrophages. *Sci. Rep.* 2020; 21(10): 12023. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-68798-2>
 13. Мокриевич А.Н., Кравченко Т.Б., Фирстова В.В., Титарева Г.М., Дятлов И.А., Тимофеев В.С., ред. *Туляремия: состояние проблемы и методы исследования*. М.: Династия; 2019.
 14. Freudenberger Catanzaro K.C., Inzana T.J. The *Francisella tularensis* polysaccharides: What is the real capsule? *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 2020; 84(1): e00065-19. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00065-19>
 15. Golovliov I., Baranov V., Krocova Z., Kovarova H., Sjöstedt A. An attenuated strain of the facultative intracellular bacterium *Francisella tularensis* can escape the phagosome of monocytic cells. *Infect. Immun.* 2003; 71(10): 5940–50. <https://doi.org/10.1128/IAI.71.10.5940-5950.2003>
 16. Cherwonogrodzky J.W., Knodel M.H., Spence M.R. Increased encapsulation and virulence of *Francisella tularensis* live vaccine strain (LVS) by subculturing on synthetic medium. *Vaccine*. 1994; 12(9): 773–5. [https://doi.org/10.1016/0264-410x\(94\)90284-4](https://doi.org/10.1016/0264-410x(94)90284-4)
 17. Bandara A.B., Champion A.E., Wang X., Berg G., Apicella M.A., McLendon M., et al. Isolation and mutagenesis of a capsule-like complex (CLC) from *Francisella tularensis*, and contribution of the CLC to *F. tularensis* virulence in mice. *PLoS One*. 2011; 6(4): e19003. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0019003>
 18. Larsson P., Oyston P.C., Chain P., Chu M.C., Duffield M., Fuxelius H.H., et al. The complete genome sequence of *Francisella tularensis*, the causative agent of tularemia. *Nat. Genet.* 2005; 37(2): 153–9. <https://doi.org/10.1038/ng1499>
 19. Marshall L.E., Nelson M., Davies C.H., Whelan A.O., Jenner D.C., Moule M.G., et al. An O-antigen glycoconjugate vaccine

- produced using protein glycan coupling technology is protective in an inhalational rat model of tularemia. *J. Immunol. Res.* 2018; 2018: 8087916. <https://doi.org/10.1155/2018/8087916>
20. Klimentova J., Rehulka P., Pavkova I., Kubelkova K., Bavlovic J., Stulik J. Cross-species proteomic comparison of outer membrane vesicles and membranes of *Francisella tularensis* subsp. *tularensis* versus subsp. *holarctica*. *J. Proteome Res.* 2021; 20(3): 1716–32. <https://doi.org/10.1021/acs.jproteome.0c00917>
 21. Rasmussen J.A., Post D.M., Gibson B.W., Lindemann S.R., Apicella M.A., Meyerholz D.K., et al. *Francisella tularensis* Schu S4 lipopolysaccharide core sugar and O-antigen mutants are attenuated in a mouse model of tularemia. *Infect. Immun.* 2014; 82(4): 1523–39. <https://doi.org/10.1128/IAI.01640-13>
 22. Raynaud C., Meibom K.L., Lety M.A., Dubail I., Candela T., Frapy E., et al. Role of the wbt locus of *Francisella tularensis* in lipopolysaccharide O-antigen biogenesis and pathogenicity. *Infect. Immun.* 2007; 75(1): 536–41. <https://doi.org/10.1128/IAI.01429-06>
 23. Lindemann S.R., Peng K., Long M.E., Hunt J.R., Apicella M.A., Monack D.M., et al. *Francisella tularensis* Schu S4 O-antigen and capsule biosynthesis gene mutants induce early cell death in human macrophages. *Infect. Immun.* 2011; 79(2): 581–94. <https://doi.org/10.1128/IAI.00863-10>
 24. Freudenberger Catanzaro K.C., Champion A.E., Mohapatra N., Cecere T., Inzana T.J. Glycosylation of a capsule-like complex (CLC) by *Francisella novicida* is required for virulence and partial protective immunity in mice. *Front. Microbiol.* 2017; 8: 935. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00935>
 25. Haurat M.F., Elhenawy W., Feldman M.F. Prokaryotic membrane vesicles: new insights on biogenesis and biological roles. *Biol. Chem.* 2015; 396(2): 95–109. <https://doi.org/10.1515/hsz-2014-0183>
 26. Yoon H. Bacterial outer membrane vesicles as a delivery system for virulence regulation. *J. Microbiol. Biotechnol.* 2016; 26(8): 1343–7. <https://doi.org/10.4014/jmb.1604.04080>
 27. McCaig W.D., Koller A., Thanassi D.G. Production of outer membrane vesicles and outer membrane tubes by *Francisella novicida*. *J. Bacteriol.* 2013; 195(6): 1120–32. <https://doi.org/10.1128/JB.02007-12>
 28. Sampath V., McCaig W.D., Thanassi D.G. Amino acid deprivation and central carbon metabolism regulate the production of outer membrane vesicles and tubes by *Francisella*. *Mol. Microbiol.* 2018; 107(4): 523–41. <https://doi.org/10.1111/mmi.13897>
 29. Pierson T., Matrakas D., Taylor Y.U., Manyam G., Morozov V.N., Zhou W., et al. Proteomic characterization and functional analysis of outer membrane vesicles of *Francisella novicida* suggests possible role in virulence and use as a vaccine. *J. Proteome Res.* 2011; 10(3): 954–67. <https://doi.org/10.1021/pr1009756>
 30. Case E.D.R., Samuel J.E. Contrasting lifestyles within the host cell. *Microbiol. Spectr.* 2016; 4(1). <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.VMBF-0014-2015>
 31. Pavkova I., Klimentova J., Bavlovic J., Horcickova L., Kubelkova K., Vlcek E., et al. *Francisella tularensis* outer membrane vesicles participate in the early phase of interaction with macrophages. *Front. Microbiol.* 2021; 12: 748706. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.748706>
 32. Klimentova J., Pavkova I., Horcickova L., Bavlovic J., Kofronova O., Benada O., et al. *Francisella tularensis* subsp. *holarctica* releases differentially loaded outer membrane vesicles under various stress conditions. *Front. Microbiol.* 2019; 10: 2304. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02304>
 33. Siebert C., Lindgren H., Ferré S., Villers C., Boisset S., Perard J., et al. *Francisella tularensis*: FupA mutation contributes to fluoroquinolone resistance by increasing vesicle secretion and biofilm formation. *Emerg. Microbes Infect.* 2019; 8(1): 808–22. <https://doi.org/10.1080/22221751.2019>
 34. Hazlett K.R., Caldon S.D., McArthur D.G., Cirillo K.A., Kirimanjeswara G.S., Magguilli M.L., et al. Adaptation of *Francisella tularensis* to the mammalian environment is governed by cues which can be mimicked *in vitro*. *Infect. Immun.* 2008; 76(10): 4479–88. <https://doi.org/10.1128/IAI.00610-08>
 35. Travis B.A., Ramsey K.M., Prezioso S.M., Tallo T., Wandzilak J.M., Hsu A., et al. Structural basis for virulence activation of *Francisella tularensis*. *Mol. Cell.* 2021; 81(1): 139–152.e10. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2020.10.035>
 36. Baron G.S., Nano F.E. MglA and MglB are required for the intramacrophage growth of *Francisella novicida*. *Mol. Microbiol.* 1998; 29(1): 247–59. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.1998.00926.x>
 37. Binesse J., Lindgren H., Lindgren L., Conlan W., Sjöstedt A. Roles of reactive oxygen species-degrading enzymes of *Francisella tularensis* SCHU S4. *Infect. Immun.* 2015; 83(6): 2255–63. <https://doi.org/10.1128/IAI.02488-14>
 38. Mohapatra N.P., Balagopal A., Soni S., Schlesinger L.S., Gunn J.S. AcpA is a *Francisella* acid phosphatase that affects intramacrophage survival and virulence. *Infect. Immun.* 2007; 75(1): 390–6. <https://doi.org/10.1128/IAI.01226-06>
 39. Hoang K.V., Chen C.G., Koopman J., Moshiri J., Adcox H.E., Gunn J.S. Identification of genes required for secretion of the *Francisella* oxidative burst-inhibiting acid phosphatase AcpA. *Front. Microbiol.* 2016; 7: 605. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00605>
 40. Llewellyn A.C., Jones C.L., Napier B.A., Bina J.E., Weiss D.S. Macrophage replication screen identifies a novel *Francisella* hydroperoxide resistance protein involved in virulence. *PLoS One.* 2011; 6(9): e24201. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0024201>
 41. Sen A., Imlay J.A. How microbes defend themselves from incoming hydrogen peroxide. *Front. Immunol.* 2021; 12: 667343. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.667343>
 42. Карцева А.С., Калмантаева О.В., Силкина М.В., Комбарова Т.И., Павлов В.М., Мокриевич А.Н. и др. Характеристика иммуногенных и протективных свойств модифицированных вариантов штамма *Francisella tularensis* 15 НИИЭГ. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2020; (3): 62–9. <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2020-3-62-69>
 43. Alharbi A., Rabadi S.M., Alqahtani M., Marghani D., Worden M., Ma Z., et al. Role of peroxiredoxin of the AhpC/TSA family in antioxidant defense mechanisms of *Francisella tularensis*. *PLoS One.* 2019; 14(3): e0213699. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0213699>
 44. Clemens D.L., Lee B.Y., Horwitz M.A. *Francisella tularensis* enters macrophages via a novel process involving pseudopod loops. *Infect. Immun.* 2005; 73(9): 5892–902. <https://doi.org/10.1128/IAI.73.9.5892-5902.2005>
 45. Wehrly T.D., Chong A., Virtaneva K., Sturdevant D.E., Child R., Edwards J.A., et al. Intracellular biology and virulence determinants of *Francisella tularensis* revealed by transcriptional profiling inside macrophages. *Cell. Microbiol.* 2009; 11(7): 1128–50. <https://doi.org/10.1111/j.1462-5822.2009.01316.x>
 46. Kramer J., Özkaya Ö., Kümmerli R. Bacterial siderophores in community and host interactions. *Nat. Rev. Microbiol.* 2020; 18(3): 152–63. <https://doi.org/10.1038/s41579-019-0284-4>
 47. Ramakrishnan G., Pérez N.M., Carroll C. Citryl ornithine is an intermediate in a three-step biosynthetic pathway for rhizoferrin in *Francisella*. *ACS Chem. Biol.* 2019; 14(8): 1760–6. <https://doi.org/10.1021/acscmbio.9b00297>
 48. Pérez N., Johnson R., Sen B., Ramakrishnan G. Two parallel pathways for ferric and ferrous iron acquisition support growth and virulence of the intracellular pathogen *Francisella tularensis* Schu S4. *Microbiol. Open.* 2016; 5(3): 453–68. <https://doi.org/10.1002/mbo3.342>

49. Ramakrishnan G. Iron and virulence in *Francisella tularensis*. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2017; 7: 107. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2017.00107>
50. Fletcher J.R., Crane D.D., Wehrly T.D., Martens C.A., Bosio C.M., Jones B.D. The ability to acquire iron is inversely related to virulence and the protective efficacy of *Francisella tularensis* live vaccine strain. *Front. Microbiol.* 2018; 9: 607. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00607>
51. Кузнецова Е.М., Волох О.А., Краснов Я.М., Полунина Т.А., Авдеева Н.Г., Самохвалова Ю.И. и др. Комплекс Bfr-O-антиген внешних мембран *Francisella tularensis*: получение, характеристика, возможности использования. *Биотехнология*. 2019; 35(1): 73–81. <https://doi.org/10.21519/0234-2758-2019-35-1-73-81>
52. Grall N., Livny J., Waldor M., Barel M., Charbit A., Meibom K.L. Pivotal role of the *Francisella tularensis* heat-shock sigma factor RpoH. *Microbiology*. 2009; 155(8): 2560–72. <https://doi.org/10.1099/mic.0.029058-0>
53. Alam A., Golovliov I., Javed E., Kumar R., Ådén J., Sjöstedt A. Dissociation between the critical role of ClpB of *Francisella tularensis* for the heat shock response and the DnaK interaction and its important role for efficient type VI secretion and bacterial virulence. *PLoS Pathog.* 2020; 16(4): e1008466. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1008466>
54. Ericsson M., Tärnvik A., Kuoppa K., Sandström G., Sjöstedt A. Increased synthesis of DnaK, GroEL, and GroES homologs by *Francisella tularensis* LVS in response to heat and hydrogen peroxide. *Infect. Immun.* 1994; 62(1): 178–83. <https://doi.org/10.1128/iai.62.1.178-183.1994>
55. Горбатов А.А., Панферцев Е.А., Баранова Е.В., Соловьев П.В., Комбарова Т.И., Титарева Г.М. и др. Диагностическая значимость рекомбинантного белка GroEL FTT_1696 для выявления противотуляремийных антител. *Бактериология*. 2017; 2(3): 9–15. <https://doi.org/10.20953/2500-1027-2017-3-9-15>
56. Brodmann M., Dreier R.F., Broz P., Basler M. *Francisella* requires dynamic type VI secretion system and ClpB to deliver effectors for phagosomal escape. *Nat. Commun.* 2017; 8: 15853. <https://doi.org/10.1038/ncomms15853>
57. Wallqvist A., Memišević V., Zavaljevski N., Pieper R., Rajagopala S.V., Kwon K., et al. Using host-pathogen protein interactions to identify and characterize *Francisella tularensis* virulence factors. *BMC Genomics*. 2015; 16: 1106. <https://doi.org/10.1186/s12864-015-2351-1>
58. Lee B., Horwitz M.A., Clemens D.L. Identification, recombinant expression, immunolocalization in macrophages, and T-Cell responsiveness of the major extracellular proteins of *Francisella tularensis*. *Infect. Immun.* 2006; 74(7): 4002–13. <https://doi.org/10.1128/IAI.00257-06>
59. *dovaniya instituta im. N.F. Gamalei RAMNj.* Moscow; 2003: 137–60. (in Russian)
5. Telford S.R. 3rd, Goethert H.K. Ecology of *Francisella tularensis*. *Annu. Rev. Entomol.* 2020; 7(65): 351–72. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-011019-025134>
6. Thelaus J., Andersson A., Broman T., Bäckman S., Granberg M., Karlsson L., et al. *Francisella tularensis* subspecies holarctica occurs in Swedish mosquitoes, persists through the developmental stages of laboratory-infected mosquitoes and is transmissible during blood feeding. *Microb. Ecol.* 2014; 67(1): 96–107. <https://doi.org/10.1007/s00248-013-0285-1>
7. Romanova L.V., Mishan'kin B.N., Pichurina N.L., Sayamov S.R., Vodop'yanov S.O. Noncultivable forms of *Francisella tularensis*. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2000; 77(2): 11–5. (in Russian)
8. Celli J., Zahrt T.C. Mechanisms of *Francisella tularensis* intracellular pathogenesis. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* 2013; 3(4): a010314. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a010314>
9. Radlinski L.C., Brunton J., Steele S., Taft-Benz S., Kawula T.H. Defining the metabolic pathways and host-derived carbon substrates required for *Francisella tularensis* intracellular growth. *mBio*. 2018; 9(6): e01471-18. <https://doi.org/10.1128/mbio.01471-18>
10. Forestal C.A., Malik M., Catlett S.V., Savitt A.G., Benach J.L., Sellati T.J., et al. *Francisella tularensis* has a significant extracellular phase in infected mice. *J. Infect. Dis.* 2007; 196(1): 134–7. <https://doi.org/10.1086/518611>
11. Yu J.J., Raulie E.K., Murthy A.K., Guentzel M.N., Klose K.E., Arulanandam B.P. The presence of infectious extracellular *Francisella tularensis* subsp. novicida in murine plasma after pulmonary challenge. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 2008; 27(4): 323–5. <https://doi.org/10.1007/s10096-007-0434-x>
12. Bradford M.K., Elkins K.L. Immune lymphocytes halt replication of *Francisella tularensis* LVS within the cytoplasm of infected macrophages. *Sci. Rep.* 2020; 21(10): 12023. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-68798-2>
13. Mokrievich A.N., Kravchenko T.B., Firstova V.V., Titareva G.M., Dyatlov I.A., Timofeev V.S., eds. *Tularemia: State of the Problem and Research Methods [Tulyaremiya: sostoyaniye problemy i metody issledovaniya]*. Moscow: Dinastiya; 2019. (in Russian)
14. Freudenberger Catanzaro K.C., Inzana T.J. The *Francisella tularensis* polysaccharides: what is the real capsule? *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 2020; 84(1): e00065-19. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00065-19>
15. Golovliov I., Baranov V., Krocova Z., Kovarova H., Sjöstedt A. An attenuated strain of the facultative intracellular bacterium *Francisella tularensis* can escape the phagosome of monocytic cells. *Infect. Immun.* 2003; 71(10): 5940–50. <https://doi.org/10.1128/IAI.71.10.5940-5950.2003>
16. Cherwonogrodzky J.W., Knodel M.H., Spence M.R. Increased encapsulation and virulence of *Francisella tularensis* live vaccine strain (LVS) by subculturing on synthetic medium. *Vaccine*. 1994; 12(9): 773–5. [https://doi.org/10.1016/0264-410x\(94\)90284-4](https://doi.org/10.1016/0264-410x(94)90284-4)
17. Bandara A.B., Champion A.E., Wang X., Berg G., Apicella M.A., McLendon M., et al. Isolation and mutagenesis of a capsule-like complex (CLC) from *Francisella tularensis*, and contribution of the CLC to *F. tularensis* virulence in mice. *PLoS One*. 2011; 6(4): e19003. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0019003>
18. Larsson P., Oyston P.C., Chain P., Chu M.C., Duffield M., Fuxelius H.H., et al. The complete genome sequence of *Francisella tularensis*, the causative agent of tularemia. *Nat. Genet.* 2005; 37(2): 153–9. <https://doi.org/10.1038/ng1499>
19. Marshall L.E., Nelson M., Davies C.H., Whelan A.O., Jenner D.C., Moule M.G., et al. An O-antigen glycoconjugate vaccine produced using protein glycan coupling technology is pro-

- fective in an inhalational rat model of tularemia. *J. Immunol. Res.* 2018; 2018: 8087916. <https://doi.org/10.1155/2018/8087916>
20. Klimentova J., Rehulka P., Pavkova I., Kubelkova K., Bavlovic J., Stulik J. Cross-species proteomic comparison of outer membrane vesicles and membranes of *Francisella tularensis* subsp. *tularensis* versus subsp. *holarctica*. *J. Proteome Res.* 2021; 20(3): 1716–32. <https://doi.org/10.1021/acs.jproteome.0c00917>
 21. Rasmussen J.A., Post D.M., Gibson B.W., Lindemann S.R., Apicella M.A., Meyerholz D.K., et al. *Francisella tularensis* Schu S4 lipopolysaccharide core sugar and O-antigen mutants are attenuated in a mouse model of tularemia. *Infect. Immun.* 2014; 82(4): 1523–39. <https://doi.org/10.1128/IAI.01640-13>
 22. Raynaud C., Meibom K.L., Lety M.A., Dubail I., Candela T., Frapy E., et al. Role of the wbt locus of *Francisella tularensis* in lipopolysaccharide O-antigen biogenesis and pathogenicity. *Infect. Immun.* 2007; 75(1): 536–41. <https://doi.org/10.1128/IAI.01429-06>
 23. Lindemann S.R., Peng K., Long M.E., Hunt J.R., Apicella M.A., Monack D.M., et al. *Francisella tularensis* Schu S4 O-antigen and capsule biosynthesis gene mutants induce early cell death in human macrophages. *Infect. Immun.* 2011; 79(2): 581–94. <https://doi.org/10.1128/IAI.00863-10>
 24. Freudenberger Catanzaro K.C., Champion A.E., Mohapatra N., Cecere T., Inzana T.J. Glycosylation of a capsule-like complex (CLC) by *Francisella novicida* is required for virulence and partial protective immunity in mice. *Front. Microbiol.* 2017; 8: 935. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00935>
 25. Haurat M.F., Elhenawy W., Feldman M.F. Prokaryotic membrane vesicles: new insights on biogenesis and biological roles. *Biol. Chem.* 2015; 396(2): 95–109. <https://doi.org/10.1515/hsz-2014-0183>
 26. Yoon H. Bacterial outer membrane vesicles as a delivery system for virulence regulation. *J. Microbiol. Biotechnol.* 2016; 26(8): 1343–7. <https://doi.org/10.4014/jmb.1604.04080>
 27. McCaig W.D., Koller A., Thanassi D.G. Production of outer membrane vesicles and outer membrane tubes by *Francisella novicida*. *J. Bacteriol.* 2013; 195(6): 1120–32. <https://doi.org/10.1128/JB.02007-12>
 28. Sampath V., McCaig W.D., Thanassi D.G. Amino acid deprivation and central carbon metabolism regulate the production of outer membrane vesicles and tubes by *Francisella*. *Mol. Microbiol.* 2018; 107(4): 523–41. <https://doi.org/10.1111/mmi.13897>
 29. Pierson T., Matrakas D., Taylor Y.U., Manyam G., Morozov V.N., Zhou W., et al. Proteomic characterization and functional analysis of outer membrane vesicles of *Francisella novicida* suggests possible role in virulence and use as a vaccine. *J. Proteome Res.* 2011; 10(3): 954–67. <https://doi.org/10.1021/pr1009756>
 30. Case E.D.R., Samuel J.E. Contrasting lifestyles within the host cell. *Microbiol. Spectr.* 2016; 4(1). <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.VMBF-0014-2015>
 31. Pavkova I., Klimentova J., Bavlovic J., Horcickova L., Kubelkova K., Vlcak E., et al. *Francisella tularensis* outer membrane vesicles participate in the early phase of interaction with macrophages. *Front. Microbiol.* 2021; 12: 748706. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.748706>
 32. Klimentova J., Pavkova I., Horcickova L., Bavlovic J., Kofronova O., Benada O., et al. *Francisella tularensis* subsp. *holarctica* releases differentially loaded outer membrane vesicles under various stress conditions. *Front. Microbiol.* 2019; 10: 2304. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02304>
 33. Siebert C., Lindgren H., Ferré S., Villers C., Boisset S., Perald J., et al. *Francisella tularensis*: FupA mutation contributes to fluoroquinolone resistance by increasing vesicle secretion and biofilm formation. *Emerg. Microbes Infect.* 2019; 8(1): 808–22. <https://doi.org/10.1080/22221751.2019>
 34. Hazlett K.R., Caldon S.D., McArthur D.G., Cirillo K.A., Kirimanjeswara G.S., Magguilli M.L., et al. Adaptation of *Francisella tularensis* to the mammalian environment is governed by cues which can be mimicked *in vitro*. *Infect. Immun.* 2008; 76(10): 4479–88. <https://doi.org/10.1128/IAI.00610-08>
 35. Travis B.A., Ramsey K.M., Prezioso S.M., Tallo T., Wandzilak J.M., Hsu A., et al. Structural basis for virulence activation of *Francisella tularensis*. *Mol. Cell.* 2021; 81(1): 139–152.e10. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2020.10.035>
 36. Baron G.S., Nano F.E. MglA and MglB are required for the intramacrophage growth of *Francisella novicida*. *Mol. Microbiol.* 1998; 29(1): 247–59. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.1998.00926.x>
 37. Binesse J., Lindgren H., Lindgren L., Conlan W., Sjöstedt A. Roles of reactive oxygen species-degrading enzymes of *Francisella tularensis* SCHU S4. *Infect. Immun.* 2015; 83(6): 2255–63. <https://doi.org/10.1128/IAI.02488-14>
 38. Mohapatra N.P., Balagopal A., Soni S., Schlesinger L.S., Gunn J.S. AcpA is a *Francisella* acid phosphatase that affects intramacrophage survival and virulence. *Infect. Immun.* 2007; 75(1): 390–6. <https://doi.org/10.1128/IAI.01226-06>
 39. Hoang K.V., Chen C.G., Koopman J., Moshiri J., Adcox H.E., Gunn J.S. Identification of genes required for secretion of the *Francisella* oxidative burst-inhibiting acid phosphatase AcpA. *Front. Microbiol.* 2016; 7: 605. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00605>
 40. Llewellyn A.C., Jones C.L., Napier B.A., Bina J.E., Weiss D.S. Macrophage replication screen identifies a novel *Francisella* hydroperoxide resistance protein involved in virulence. *PLoS One.* 2011; 6(9): e24201. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0024201>
 41. Sen A., Imlay J.A. How microbes defend themselves from incoming hydrogen peroxide. *Front. Immunol.* 2021; 12: 667343. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.667343>
 42. Kartseva A.S., Kalmantaeva O.V., Silkina M.V., Kombarova T.I., Pavlov V.M., Mokrievich A.N., et al. Characterization of immunogenic and protective properties of the modified variants of the strain *Francisella tularensis* 15 NIEG. *Problemy osobo opasnykh infektsiy.* 2020; (3): 62–9. <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2020-3-62-69> (in Russian)
 43. Alharbi A., Rabadi S.M., Alqahtani M., Marghani D., Worden M., Ma Z., et al. Role of peroxidase of the AhpC/TSA family in antioxidant defense mechanisms of *Francisella tularensis*. *PLoS One.* 2019; 14(3): e0213699. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0213699>
 44. Clemens D.L., Lee B.Y., Horwitz M.A. *Francisella tularensis* enters macrophages via a novel process involving pseudopod loops. *Infect. Immun.* 2005; 73(9): 5892–902. <https://doi.org/10.1128/IAI.73.9.5892-5902.2005>
 45. Wehrly T.D., Chong A., Virtaneva K., Sturdevant D.E., Child R., Edwards J.A., et al. Intracellular biology and virulence determinants of *Francisella tularensis* revealed by transcriptional profiling inside macrophages. *Cell. Microbiol.* 2009; 11(7): 1128–50. <https://doi.org/10.1111/j.1462-5822.2009.01316.x>
 46. Kramer J., Özkaya Ö., Kümmerli R. Bacterial siderophores in community and host interactions. *Nat. Rev. Microbiol.* 2020; 18(3): 152–63. <https://doi.org/10.1038/s41579-019-0284-4>
 47. Ramakrishnan G., Pérez N.M., Carroll C. Citryl ornithine is an intermediate in a three-step biosynthetic pathway for rhizoferrin in *Francisella*. *ACS Chem. Biol.* 2019; 14(8): 1760–6. <https://doi.org/10.1021/acscchembio.9b00297>
 48. Pérez N., Johnson R., Sen B., Ramakrishnan G. Two parallel pathways for ferric and ferrous iron acquisition support growth and virulence of the intracellular pathogen *Francisella tularensis* Schu S4. *Microbiol. Open.* 2016; 5(3): 453–68. <https://doi.org/10.1002/mbo3.342>
 49. Ramakrishnan G. Iron and virulence in *Francisella tularensis*. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2017; 7: 107. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2017.00107>
 50. Fletcher J.R., Crane D.D., Wehrly T.D., Martens C.A., Bosio C.M., Jones B.D. The ability to acquire iron is inversely

- related to virulence and the protective efficacy of *Francisella tularensis* live vaccine strain. *Front. Microbiol.* 2018; 9: 607. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00607>
51. Kuznetsova E.M., Volokh O.A., Krasnov Ya.M., Polunina T.A., Avdeeva N.G., Samokhvalova Yu.I., et al. Complex Bfr-O-Antigen of *Francisella tularensis* outer membranes: production, characteristics and potential use. *Biotekhnologiya.* 2019; 35(1): 73–81. <https://doi.org/10.21519/0234-2758-2019-35-1-73-81>
52. Grall N., Livny J., Waldor M., Barel M., Charbit A., Meibom K.L. Pivotal role of the *Francisella tularensis* heat-shock sigma factor RpoH. *Microbiology.* 2009; 155(8): 2560–72. <https://doi.org/10.1099/mic.0.029058-0>
53. Alam A., Golovliov I., Javed E., Kumar R., Ådén J., Sjöstedt A. Dissociation between the critical role of ClpB of *Francisella tularensis* for the heat shock response and the DnaK interaction and its important role for efficient type VI secretion and bacterial virulence. *PLoS Pathog.* 2020; 16(4): e1008466. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1008466>
54. Ericsson M., Tärnvik A., Kuoppa K., Sandström G., Sjöstedt A. Increased synthesis of DnaK, GroEL, and GroES homologs by *Francisella tularensis* LVS in response to heat and hydrogen peroxide. *Infect. Immun.* 1994; 62(1): 178–83. <https://doi.org/10.1128/iai.62.1.178-183.1994>
55. Gorbatov A.A., Panfertsev E.A., Baranova E.V., Solov'ev P.V., Kombarova T.I., Titareva G.M., et al. Diagnostic significance of the recombinant protein GroEL FTT_1696 for the identification of antitubercular antibodies. *Bakteriologiya.* 2017; 2(3): 9–15. <https://doi.org/10.20953/2500-1027-2017-3-9-15in Russian>
56. Brodmann M., Dreier R.F., Broz P., Basler M. *Francisella* requires dynamic type VI secretion system and ClpB to deliver effectors for phagosomal escape. *Nat. Commun.* 2017; 8: 15853. <https://doi.org/10.1038/ncomms15853>
57. Wallqvist A., Memišević V., Zavaljevski N., Pieper R., Rajagopala S.V., Kwon K., et al. Using host-pathogen protein interactions to identify and characterize *Francisella tularensis* virulence factors. *BMC Genomics.* 2015; 16: 1106. <https://doi.org/10.1186/s12864-015-2351-1>
58. Lee B., Horwitz M.A., Clemens D.L. Identification, recombinant expression, immunolocalization in macrophages, and T-Cell responsiveness of the major extracellular proteins of *Francisella tularensis*. *Infect. Immun.* 2006; 74(7): 4002–13. <https://doi.org/10.1128/IAI.00257-06>

Информация об авторах

Борисова Светлана Владимировна[✉] — м.н.с. отдела профилактических препаратов, Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, Саратов, Россия, rusrapi@microbe.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3793-6526>

Волох Оксана Александровна — к.б.н., зав. отделом профилактических препаратов, Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, Саратов, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-3044-971X>

Участие авторов. Все авторы внесли существенный вклад в проведение поисково-аналитической работы и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию до публикации.

Статья поступила в редакцию 09.04.2022;
принята к публикации 20.06.2022;
опубликована 30.06.2022

Information about the authors

Svetlana V. Borisova[✉] — junior researcher, Department of preventive drugs, Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov, Russia, rusrapi@microbe.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3793-6526>

Oksana A. Volokh — Cand. Sci. (Biol.), Head, Department of preventive drugs, Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-3044-971X>

Author contribution. All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published.

The article was submitted 09.04.2022;
accepted for publication 20.06.2022;
published 30.06.2022