

DOI: 10.21055/0370-1069-2022-2-27-35

УДК 616.932:579.222

С.П. Заднова¹, Н.А. Плеханов¹, Т.А. Кульшань², И.Г. Швиденко², А.А. Крицкий¹**СИСТЕМА СЕКРЕЦИИ ШЕСТОГО ТИПА *VIBRIO CHOLERAE***¹ФКУЗ «Российский научно-исследовательский институт «Микроб», Саратов, Российская Федерация;²ФГБОУ ВО «Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского», Саратов, Российская Федерация

В обзоре обобщены данные литературы о системе секреции 6-го типа холерного вибриона. Данная система является контакт-зависимым макромолекулярным механизмом, с помощью которого бактерии транслоцируют внутрь клеток-мишеней токсические белки-эффекторы. Она присутствует у многих грамтрицательных бактерий, включая *Vibrio cholerae*. С помощью указанной системы холерный вибрион поражает фагоцитирующих амёб, нематод, инфузории, бактерии, принадлежащие к разным видам, а также неродственные штаммы *V. cholerae*. Освобождаясь после лизиса бактерий-конкурентов ДНК может поглощаться клетками холерного вибриона, что приводит к приобретению нового генетического материала. Система секреции 6-го типа участвует в инфекционном процессе. Уничтожение макрофагов и микробиоты способствует активному размножению патогена и колонизации эпителиоцитов хозяина, а продукция эффекторных белков вызывает развитие диареи и воспаление кишечника. Система секреции 6-го типа холерного вибриона имеет схожее с другими грамтрицательными бактериями строение. Гены, кодирующие белки данной системы, расположены на одном большом участке второй хромосомы и в нескольких дополнительных кластерах. Показано, что токсигенные штаммы *V. cholerae* содержат идентичный набор генов системы секреции, в то же время в нетоксигенных изолятах их состав вариателен. Регуляция экспрессии белков системы секреции отличается в разных по токсигенности штаммах *V. cholerae*, зависит от ряда сигналов внешней среды и связана с другими регуляторными сетями клетки. Представлены экспериментальные данные по анализу структуры глобального регуляторного гена *vasH* системы секреции 6-го типа у токсигенных и нетоксигенных штаммов *V. cholerae* O1-серогруппы биовара Эль Тор, выделенных на территории Российской Федерации. Таким образом, система секреции 6-го типа является важным механизмом, способствующим выживанию *V. cholerae* в сложных сообществах *in vitro*, защищающим от повреждающих факторов макроорганизма и повышающим вирулентность *in vivo*, а также обеспечивающим эволюционные преобразования холерного вибриона. Дальнейшее изучение данной системы позволит лучше понять процессы взаимодействия «патоген – хозяин», а также механизмы адаптации *V. cholerae* во внешней среде.

Ключевые слова: *Vibrio cholerae*, структура и функция генов системы секреции 6-го типа холерного вибриона, структура регуляторного гена *vasH*.

Корреспондирующий автор: Заднова Светлана Петровна, e-mail: rusrap1@microbe.ru.

Для цитирования: Заднова С.П., Плеханов Н.А., Кульшань Т.А., Швиденко И.Г., Крицкий А.А. Система секреции шестого типа *Vibrio cholerae*. Проблемы особо опасных инфекций. 2022; 2:27–35. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-2-27–35

Поступила 25.06.2021. Отправлена на доработку 19.11.2021. Принята к публ. 03.12.2021.

S.P. Zadnova¹, N.A. Plekhanov¹, T.A. Kul'shan², I.G. Shvidenko², A.A. Kritsky¹***Vibrio cholerae* Secretion System of the Type VI**¹Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov, Russian Federation;²Saratov State Medical University named after V.I. Razumovsky, Saratov, Russian Federation

Abstract. The review summarizes literature data on the *Vibrio cholerae* secretion system of the 6th type. This system is a contact-dependent macromolecular mechanism through which bacteria translocate toxic effector proteins into target cells. It is found in many Gram-negative bacteria, including *Vibrio cholerae*. *V. cholerae* infects phagocytic amoebae, nematodes, ciliates, bacteria belonging to different species, as well as unrelated strains of *V. cholerae* using this system. DNA released after lysis of competing bacteria can be taken up by *Vibrio cholerae* cells, which leads to the acquisition of new genetic material. The type VI secretion system is involved in the infectious process. The destruction of macrophages and microbiota contributes to the active reproduction of the pathogen and colonization of host epitheliocytes, and the production of effector proteins causes the development of diarrhea and intestinal inflammation. Cholera vibrio secretion system of the 6th type has a structure similar to other gram-negative bacteria. The genes encoding the proteins of this system are located in one large region of the second chromosome and in several additional clusters. It has been shown that toxigenic strains of *V. cholerae* contain an identical set of secretion system genes, while their composition is variable in non-toxigenic isolates. The regulation of secretion system protein expression differs in *V. cholerae* strains of different toxigenicity, depends on a number of environmental signals, and is associated with other cell regulatory networks. The paper provides experimental data on the analysis of the structure of the global regulatory gene, *vasH*, of the type VI secretion system in toxigenic and non-toxigenic *V. cholerae* O1, biovar El Tor strains isolated in the Russian Federation. Thus, the type VI secretion system is an important mechanism that facilitates the survival of *V. cholerae* in complex communities *in vitro*, protects against damaging factors of the macroorganism and increases virulence *in vivo*, and also provides evolutionary transformations of cholera vibrio. Further study of this system will allow a better understanding of the pathogen-host interaction processes, as well as the adaptation mechanisms of *V. cholerae* in the external environment.

Key words: *Vibrio cholerae*, structure and function of the genes of the type VI secretion system in cholera vibrio, structure of the *vasH* regulatory gene.

Conflict of interest: The authors declare no conflict of interest.

Corresponding author: Svetlana P. Zadnova, e-mail: rusrapl@microbe.ru.

Citation: Zadnova S.P., Plekhanov N.A., Kul'shan' T.A., Shvidenko I.G., Kritsky A.A. *Vibrio cholerae* Secretion System of the Type VI. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii* [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2022; 2:27–35. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2022-2-27-35

Received 25.06.2021. Revised 19.11.2021. Accepted 03.12.2021.

Zadnova S.P., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4366-0562>
Plekhanov N.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2355-7018>

Kul'shan' T.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0904-1186>
Kritsky A.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5506-4285>

Грамотрицательные микроорганизмы *Vibrio cholerae* по структуре поверхностного О-антигена подразделяются на более чем 200 серогрупп. Однако только токсигенные изоляты О1-серогруппы (классического и Эль Тор биоваров) и О139-серогруппы вызывают особо опасную инфекционную болезнь – холеру. Данные штаммы содержат мобильные элементы с генами основных факторов вирулентности: профаг СТХ с генами *ctxAB*, кодирующими продукцию холерного токсина, вызывающего развитие профузной диареи, а также остров патогенности VPI-1 с генами *tcpA-F*, ответственными за биосинтез токсин-корегулируемых пилей адгезии, необходимых для первого этапа инфекционного процесса – колонизации вибрионами эпителиоцитов кишечника. Нетоксигенные штаммы серогрупп О1 и О139, а также холерные вибрионы серогрупп неО1/неО139, часто выделяемые из открытых водоемов, могут вызывать диарейные заболевания в результате продукции дополнительных факторов патогенности, которые могут иметь характер локальных вспышек [1]. Для выживания в таких разных экологических нишах *V. cholerae* выработал механизмы, позволяющие ему эффективно конкурировать с бактериями, составляющими микробиом кишечника человека, а также являющимися постоянными обитателями открытых водоемов. Одним из таких механизмов является контакт-зависимая система секреции 6-го типа (СС6Т). Гены, кодирующие данную систему, присутствуют в геноме 25 % секвенированных патогенных видов грамотрицательных бактерий. При этом *V. cholerae* был одним из первых микроорганизмов, у которого обнаружена данная система [2–4]. С помощью СС6Т бактерии уничтожают конкурентов (как прокариот, так и эукариот), транслоцируя внутрь них токсические белки-эффекторы. Холерный вибрион, используя СС6Т, поражает фагоцитирующих амёб, нематод, инфузории, бактерии разных видов, а также неродственные штаммы *V. cholerae*. Освобождаемая после лизиса бактерий-конкурентов ДНК может поглощаться холерным вибрионом. Эта естественная трансформация позволяет ему приобретать новые гены. Необходимо отметить, что в токсигенных штаммах *V. cholerae* О1 биовара Эль Тор поглощение ДНК и экспрессия генов СС6Т регулируются одновременно [5–7]. Высказывается предположение, что уничтожение с помощью СС6Т макрофагов, а также микробиоты, населяющей кишечный тракт человека, способствует активному размножению патогена и колонизации эпителиоцитов тонкой кишки. На лабораторных животных показано, что белки-эффекторы вызывают воспаление кишечника и развитие диареи

[3, 8–12]. Кроме того, биосинтез белков-эффекторов СС6Т может быть одной из причин высокой реактогенности вакцинных препаратов против холеры, созданных на основе аттенуированных штаммов [8].

Таким образом, система секреции 6-го типа является важным механизмом, способствующим выживанию *V. cholerae* в сложных сообществах *in vitro*, защищающим от повреждающих факторов макроорганизма и повышающим вирулентность *in vivo*, а также обеспечивающим дальнейшую эволюцию патогена. Учитывая значительную роль указанного механизма в биологии холерного вибриона, целью обзора является рассмотрение структуры, генетической организации и функции белков системы секреции 6-го типа у *V. cholerae*.

Строение системы секреции 6-го типа. Первые исследования СС6Т у холерного вибриона были проведены на нетоксигенном штамме *V. cholerae* V52 О37-серогруппы при его взаимодействии с амёбой *Dictyostelium discoideum*. В данном штамме эффекторы активно экспрессируются в лабораторных условиях [4]. В результате было установлено, что система секреции 6-го типа холерного вибриона, как и других бактерий, представляет собой макромолекулярную структуру, очень схожую по строению и функциям с компонентами бактериофага Т4. Она состоит из основания (базальная плита), которое расположено на цитоплазматической мембране, мембранного комплекса, проходящего через периплазматическое пространство и соединяющего цитоплазматическую и внешнюю мембраны, а также внешней (сократительной) и внутренней трубок (рис. 1). Сборка СС6Т в клетке начинается с мембранного комплекса, включающего три белка Vas (virulence-associated secretion): VasD (липопротеин внешней мембраны), VasF (белок цитоплазматической мембраны) и VasK, соединяющий белки внешней и внутренней мембран. При этом последний является важным белком СС6Т, мутации в гене *vasK* приводят к отсутствию секреции эффекторов. На цитоплазматической мембране данный комплекс прикрепляется к основанию, состоящему из белков HsiF, VasA, VasB, VasE [4, 12, 13].

Со стороны цитоплазмы к основанию присоединяется внешняя сократительная трубка (оболочка), основу которой составляют белки VipA и VipB (рис. 1). На конце данной трубки находится белок VasJ, способствующий полимеризации и стабилизации указанной структуры, а также TagA, ограничивающий ее полимеризацию. При мутации в гене *tagA* формируется очень длинная сократительная трубка, образующая изгибы, которая в итоге может оторваться от основания [14, 15].

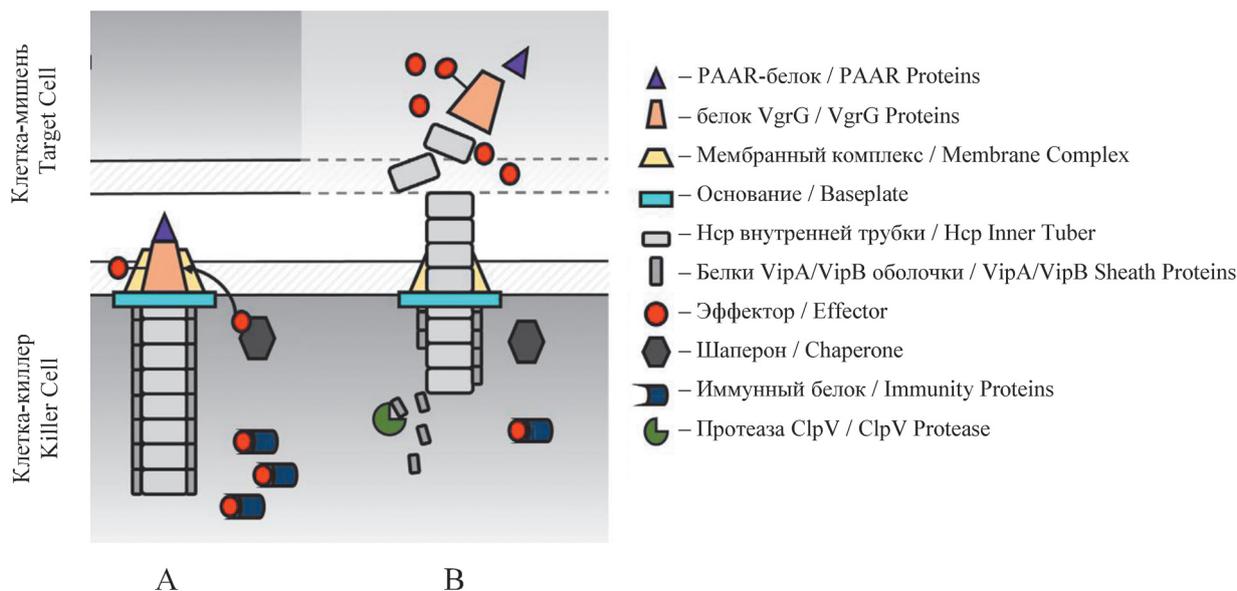


Рис. 1. Схематическое изображение компонентов СС6Т холерного вибриона [13]:

A – в интактном состоянии; B – при поражении клетки-мишени

Fig. 1. Schematic representation of the components of *Vibrio cholerae* SS6T [13]:

A – in intact state; B – when the target cell is damaged

Внутри сократительной трубки расположена внутренняя трубка, включающая кольца белка Нсп (hemolysin-coregulated protein). На верхнем конце Нсп-трубки находятся белки VgrG (valine-glycine repeat protein G), образующие треугольный наконечник. Разные штаммы холерного вибриона могут содержать несколько (от 1 до 5) видов белка VgrG, имеющих идентичный аминокотональный (N) конец, но различающихся по энзиматической активности в карбоксильном (C) участке. К белкам VgrG присоединяются эффикторы, которые доставляются на наконечник внутренней трубки с помощью адапторов или белков-шаперонов, а также белки PAAR (proline-alanine-alanine-arginine). PAAR-белки образуют конусообразную структуру («копье»), которая как шприц прокалывает мембрану клетки-мишени при сжатии сократительной трубки (рис. 1) [4, 13, 16].

Внешняя и внутренняя трубки собираются в клетке примерно в течение 30 секунд и могут оставаться в неактивном состоянии несколько минут, пока не поступит сигнал, вызывающий быстрое сокращение внешней оболочки и перемещение внутренней трубки в клетку-мишень [12]. В отличие от токсичного комплекса (Нсп/VgrG/PAAR/эффиктор), доставляемого в клетки-мишени, сократительная трубка остается в клетках хозяина и впоследствии разрушается протеазой ClpV [17, 12].

Генетическая организация и характеристика эффикторов. Гены, кодирующие белки СС6Т, расположены на одном большом участке (VCA0105-VCA0124) второй хромосомы *V. cholerae* и нескольких дополнительных или вспомогательных (auxiliary) кластерах (рис. 2). Установлено, что все токсигенные пандемические штаммы *V. cholerae* содержат иден-

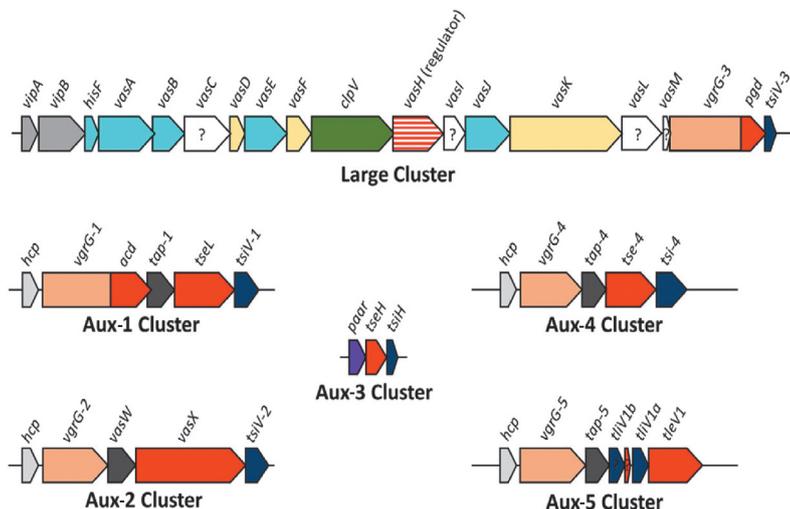


Рис. 2. Генетическое строение СС6Т холерного вибриона [13]:

Large cluster – большой кластер; Aux-1, 2, 3, 4, 5 – вспомогательные кластеры. Гены, кодирующие белки с идентичной функцией, отмечены одинаковым цветом. Цвет генов соответствует кодируемым белкам, приведенным на рис. 1

Fig. 2. Genetic structure of SS6T in cholera vibrio [13]:

Large cluster; Aux-1, 2, 3, 4, 5 – auxiliary clusters. Genes encoding proteins with identical function are marked with the same color. The color of the genes corresponds to the encoded proteins shown in Fig. 1

тичный набор СС6Т-генов, или А-тип (большой кластер, Auh-1, Auh-2), в то же время в водных нетоксигенных штаммах их состав вариабелен [18, 19].

В центральной части большого кластера расположен ген *vasH*, кодирующий регуляторный белок VasH. Для активации транскрипции генов СС6Т данный регулятор взаимодействует с альтернативным сигма-фактором σ^{54} (белок RpoN) [4, 12, 13, 20]. Белок VasH имеет молекулярную массу 59 kD, включает 530 аминокислот и состоит из трех функциональных участков: N-терминального; центрального, обеспечивающего связывание с RpoN; и C-терминального ДНК-связывающего. Ген *vasH* имеется в геноме всех штаммов холерного вибриона, но его структура отличается значительным полиморфизмом [21, 22].

Учитывая ключевую роль регуляторного белка VasH в функционировании СС6Т, мы изучили структуру гена *vasH* у 40 токсигенных и нетоксигенных штаммов *V. cholerae* O1-серогруппы биовара Эль Тор, выделенных от больных и из внешней среды на территории Российской Федерации в разные периоды текущей седьмой пандемии холеры (с 1970 по 2014 год). У всех изученных токсигенных штаммов *ctxA⁺tcpA⁺* структура гена *vasH* соответствовала нуклеотидной последовательности данного гена референс-штамма *V. cholerae* N16961 O1-серогруппы биовара Эль Тор. В то же время нетоксигенные (*ctxA⁻*) штаммы образовывали две группы. В первую вошли клинические и водные изоляты, имеющие, как и токсигенные штаммы, интактный ген *vasH*. Отличительной генетической особенностью данной группы нетоксигенных штаммов является наличие гена *tcpA*, кодирующего биосинтез основной субъединицы токсин-корегулируемых пилей адгезии (изоляты *ctxA⁻tcpA⁺*). Вторую группу составили штаммы *ctxA⁻tcpA⁻*, у которых структура гена *vasH* была вариабельной со множеством единичных замен нуклеотидов (SNP) и делеций. Необходимо отметить, что в ранее проведенной работе отмечена гетерогенность данных штаммов и по структуре других генов в геноме [23]. Таким образом, при анализе штаммов *V. cholerae* O1 биовара Эль Тор, выделенных на территории России, подтверждены ранее полученные данные литературы о наличии интактного гена *vasH* у токсигенных штаммов *ctxA⁺tcpA⁺* *V. cholerae* и вариабельного – у изолятов *ctxA⁻tcpA⁻*. В то же время установлено, что нетоксигенные изоляты *ctxA⁻tcpA⁺*, так же как и токсигенные штаммы *ctxA⁺tcpA⁺*, содержат интактный ген *vasH*. На основе полученных данных можно высказать предположение, что механизмы регуляции СС6Т у изолятов *ctxA⁻tcpA⁺* *V. cholerae* O1 биовара Эль Тор будут подобны таковым токсигенных штаммов, но для подтверждения данного предположения необходимы дальнейшие исследования.

Кроме гена *vasH* большой кластер также содержит гены, кодирующие структурные белки мембранного комплекса, базальной структуры, наружной и внутренней трубок, наконечника (*vgrG-3*) и протеазу

ClpV (рис. 2) [4, 12, 13]. Белок VgrG-3, кодируемый соответствующим геном большого кластера, обладает эффекторными свойствами. На его карбоксильном конце расположен домен с лизоцимной активностью, который разрушает пептидогликановый слой бактерий. Рядом с геном *vgrG-3* находится ген иммунного белка *tsiV-3* [19, 24]. Большой кластер не содержит гены, отвечающие за продукцию гемолизина Hcp, которые размещены на дополнительных Auh-кластерах.

Auh-кластеры, кроме гена *hcp*, включают гены, отвечающие за биосинтез эффекторов, иммунных белков и белков-шаперонов (рис. 2). Так, на Auh-1 находится ген *tseL*, отвечающий за биосинтез липазы TseL, разрушающей цитоплазматическую мембрану прокариотических клеток и оболочку эукариотических клеток. Рядом с *tseL* расположен ген иммунного белка TsiV-1. В доставке липазы TseL на конус внутренней трубки участвует шаперон Tap-1, кодируемый соответствующим геном. Tap-1 является химерным белком, содержащим VgrG-связывающий N-концевой домен и TseL-связывающий C-концевой участок. Белок VgrG-1, кодируемый расположенным на данном кластере геном *vgrG-1*, содержит C-концевой домен, связывающий мономеры актина, что приводит к повреждению цитоскелета эукариотических клеток. На кластере Auh-2 расположен ген *vasX*, кодирующий порообразующий токсин, обладающий колицин-подобной активностью и разрушающий цитоплазматическую мембрану как эукариотических, так прокариотических клеток. Доставку VasX-эффектора на наконечник Hcp-трубки, где он связывается с белком VgrG-2, осуществляет шаперон VasW. Гены *vgrG-2* и *vasW* также расположены на кластере Auh-2 [3, 24–26].

Многие штаммы *V. cholerae* содержат дополнительные кластеры Auh-4 и Auh-5, которые имеют схожую с кластерами Auh-1 и Auh-2 структурную организацию. Функция эффектора, расположенного на Auh-4, неизвестна, а Auh-5 содержит ген *tleV1*, кодирующий липазу TleV1, которая разрушает цитоплазматическую мембрану прокариот [13, 16].

Отличающийся от других Auh-кластеров, Auh-3 впервые обнаружен в 2015 г. E. Altindis *et al.* [27] в токсигенных штаммах *V. cholerae* O1-серогруппы классического и Эль Тор биоваров. Данный элемент размером 6 kb получил обозначение Auh-3^p. На хромосоме рядом с участком Auh-3 расположены гены сайт-специфической рекомбиназы и интегразы. Данный кластер заметно короче других Auh-локусов СС6Т и имеет уникальное строение (рис. 2). Кроме генов, кодирующих эффектор (гидролаза TseH) и иммунный (TsiH) белок, данный участок содержит ген, ответственный за продукцию адапторного PAAR-белка. Гидролаза TseH разрушает пептидогликановый слой прокариот. Установлено, что данный эффектор начинает активно экспрессироваться при наличии в среде обитания определенных видов бактерий, в том числе *Aeromonas* и *Edwardsiella*.

Указанные бактерии являются распространенными патогенами рыб, и, возможно, экспрессия TseH дает конкурентные преимущества холерному вибриону при колонизации рыб [28, 29]. Некоторые нетоксигенные водные штаммы холерного вибриона также содержат Auh-3, но размер данного кластера, обозначенного как Auh-3^E, намного больше Auh-3^P и составляет примерно 40 kb. Высказывается предположение, что редукция указанного мобильного элемента способствовала повышению конкурентных свойств патогена и была важным шагом при формировании пандемических клонов *V. cholerae* [27, 29, 30]. Auh-3^P является стабильным элементом, в то же время Auh-3^E может быть легко удален из хромосомы водных вибрионов или интегрирован в нее посредством сайт-специфической рекомбинации. Высказано предположение, что причинами стабильности данного кластера у пандемических штаммов являются наличие неактивной интегразы, имеющей усеченный С-концевой участок, а также отсутствие гена, кодирующего фактор направленной рекомбинации (RDF), который имеется на Auh-3^E водных штаммов [29].

Стоит отметить, что гены, кодирующие эффекторный белки, располагаются рядом с генами, ответственными за биосинтез иммунных белков, нейтрализующих действие соответствующего эффектора при его нахождении в цитоплазме собственных клеток [13, 16, 18]. Обычно при повреждении гена иммунного белка клетки становятся чувствительными к действию соответствующего эффектора. Однако установлено, что при делеции в гене *tsiH*, расположенном на Auh-3, двухкомпонентная система VxrAB реагирует на повреждение клеточной стенки *V. cholerae*, вызванное TseH, и быстро индуцирует экспрессию генов репарации пептидогликанового слоя [28].

Структура генов, кодирующих эффекторы и соответствующие им иммунные белки у нетоксигенных водных штаммов *V. cholerae*, сильно изменчива [18]. Возможно, разнообразие пар «эффектор – иммунитет» способствует повышению конкурентных свойств данных штаммов *V. cholerae*. Стоит отметить, что механизмы доминирования одного штамма холерного вибриона над другим до конца не установлены. Возможно, кроме различий в скорости роста бактериальной популяции, весомый вклад в данный процесс вносит и СС6Т. При этом селективное преимущество штамма определяется как арсеналом синтезируемых эффекторов, так и скоростью активации СС6Т и механизмом ее регуляции [31, 32].

Некоторые исследователи отмечают, что повышенная экспрессия ряда эффекторов коррелирует с увеличенной способностью *V. cholerae* к колонизации кишечника лабораторных животных (кротльчата-сосунки, новорожденные мыши), что доказывает участие СС6Т в инфекционном процессе [8, 9, 11]. А. Joshi *et al.* высказали предположение, что эффективная колонизация кишечника штаммами *V. cholerae* с повышенным биосинтезом эффекторных

белков происходит в результате уничтожения ими микробиоты хозяина, населяющей кишечный тракт и препятствующей прикреплению патогена к эпителиоцитам тонкой кишки [12].

Таким образом, у холерного вибриона выявлено значительное количество белков, обладающих эффекторными свойствами. Часть из них поражают исключительно эукариотические (VgrG-1) или бактериальные (TleV-1, TseH, VgrG-3) формы, а некоторые (VasX, TseL) разрушают как эукариотические, так и прокариотические клетки. Установлено, что пандемические штаммы *V. cholerae* содержат гены, кодирующие идентичный набор эффекторов, включающий липазу TseL, порообразующий колицин VasX, лизоцим VgrG-3 и гидролазу TseH. Активность этих эффекторов в собственных клетках нейтрализуется взаимодействием с иммунными белками соответственно TsiV1, TsiV2, TsiV3 и TsiH.

Регуляция системы секреции 6-го типа.

Регуляция СС6Т у холерного вибриона до конца не изучена и отличается в разных штаммах *V. cholerae*. Показано участие различных глобальных регуляторных белков и сигналов внешней среды в данном процессе (рис. 3). Регуляция экспрессии белков СС6Т наиболее изучена у штамма *V. cholerae* V52 O37-серогруппы, а также у токсигенных изолятов *V. cholerae* O1-серогруппы биовара Эль Тор. В нетоксигенных штаммах *V. cholerae* O1 биовара Эль Тор, выделенных из внешней среды, наблюдается активная экспрессия белков СС6Т, что, видимо, обусловлено необходимостью выживать в условиях большой конкуренции со стороны многочисленных бактерий и простейших в водной среде. Однако механизмы и сигналы внешней среды, регулирующие работу СС6Т у данных изолятов, пока не исследованы [13, 33].

В штамме V52 транскрипция генов большого кластера СС6Т, а также Auh-1 и Auh-2 контролируется белком TfoY, структура которого подобна регулятору TfoX токсигенных клинических штаммов *V. cholerae* O1-серогруппы. Экспрессия TfoY зависит от концентрации в клетках вторичного мессенджера – циклического дигуанилата (с-di-GMP), который регулирует транскрипцию значительного количества генов в штаммах холерного вибриона [34]. Повышенное содержание с-di-GMP в клетках блокирует экспрессию белка TfoY, в то же время при уменьшении концентрации с-di-GMP его биосинтез возрастает и начинается продукция белков СС6Т (рис. 3) [13, 34].

Согласно данным литературы, типичные токсигенные штаммы *V. cholerae* O1-серогруппы биовара Эль Тор, явившиеся возбудителями текущей (седьмой) пандемии холеры, содержат полностью функциональную СС6Т, но при их культивировании на питательных средах она является неактивной. Биосинтез белков СС6Т в данных штаммах происходит *in vitro* только в определенных условиях (повышенная осмолярность, сниженная температура),

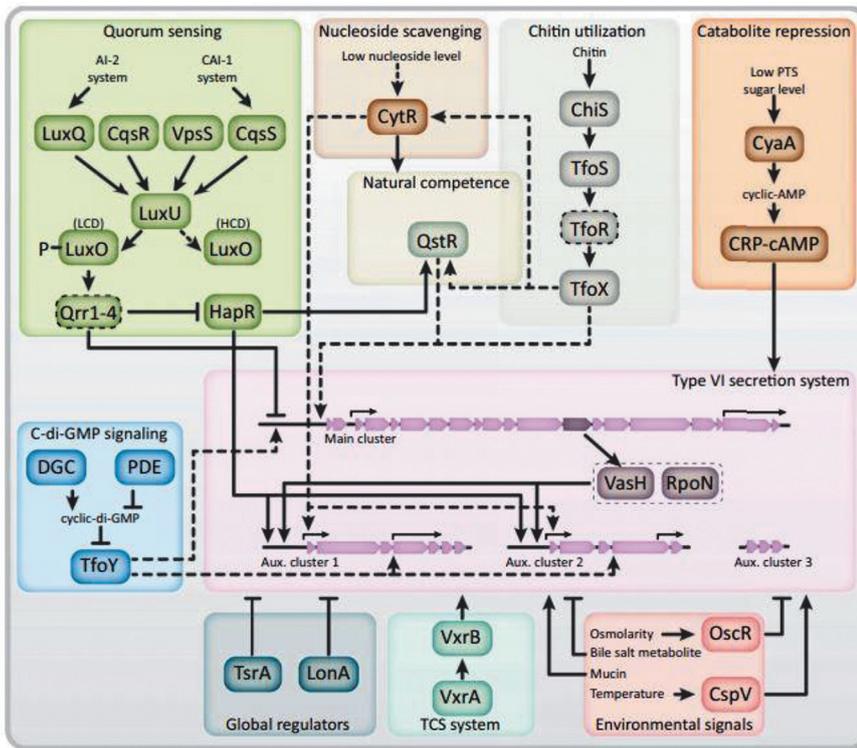


Рис. 3. Модель регуляторной сети, контролирующей экспрессию белков системы секреции 6-го типа в различных штаммах *V. cholerae* [12]:

Сплошные линии указывают на установленный механизм регуляции; пунктирные – на предполагаемый

Fig. 3. Model of the regulatory network that controls the expression of proteins of the type VI secretion system in various strains of *V. cholerae* [12]:

The solid lines indicate the established regulatory mechanism; the dotted lines indicate the putative one

а также *in vivo* [22, 33]. Ранее нами было проведено сравнительное масс-спектрометрическое сканирование белков из лизатов клеток двух токсигенных клинических штаммов *V. cholerae* O1-серогруппы биовара Эль Тор: типичного M1062 (Астрахань, 1970) и генетически измененного M1509 (Москва, 2012), выращенных на LB-агаре при температуре 37 °С. Среди 787 белков типичного штамма M1062 действительно не выявлено ни одного белка СС6Т, в то же время у генетически измененного штамма M1509 обнаружено два белка: *VipA* и *VipB*, – участвующих в формировании внешней трубки [35]. Возможно, в циркулирующих в настоящее время генетически измененных штаммах *V. cholerae* O1 биовара Эль Тор произошло изменение регуляторных механизмов, что способствовало активации СС6Т, и продукция белков-эффекторов происходит при культивировании данных штаммов в лабораторных условиях, но для проверки данного предположения необходимы дополнительные исследования.

При установлении причины отсутствия экспрессии белков СС6Т у типичных токсигенных штаммов *V. cholerae* O1 биовара Эль Тор *in vitro* было выявлено, что их продукция репрессируется глобальными регуляторами LuxO и TsrA. Белок LuxO входит в состав системы Quorum Sensing (QS), контролирующей экспрессию различных генов в зависимости от плотности бактериальной популяции. QS обеспечивает взаимодействие между бактериальными клетками за счет секреции/детекции низкомолекулярных сигнальных молекул – аутоиндукторов (AI) [36]. У возбудителя холеры обнаружены несколько видов AI, среди которых наиболее хорошо изучены CAI-1 – (S)-3-гидрокситридекан-4-он и AI-2 – (2S,4S)-2-метил-2,3,3,4-тетрагидрокситетрагидрофуран-борат [37].

При низкой плотности микробных клеток и, соответственно, низкой концентрации секретируемых AI происходит фосфорилирование регуляторного белка LuxO. Взаимодействие фосфорилированного LuxO~P и сигма-субъединицы RpoN индуцирует транскрипцию малых некодирующих РНК – QrrsRNAs (Quorum Regulatory small RNA). QrrsRNAs блокируют транскрипцию генов большого кластера СС6Т, а также связываются с белком-шапероном Hfq, образуя комплекс, подавляющий экспрессию важного QS-регулятора – белка HapR. В отсутствие HapR транскрипция генов СС6Т, расположенных на кластерах Aux-1 и Aux-2, а также регуляторного белка QstR, контролирующего экспрессию генов большого кластера, блокируется (рис. 3). В экспериментально полученных штаммах *V. cholerae*, имеющих мутацию в гене *luxO*, белки СС6Т активно синтезировались в токсигенных штаммах, но оставались в клетках. Для их последующей экспрессии необходимо было нарушение транскрипции гена *tsrA*, кодирующего негативный регулятор TsrA [8, 13, 38]. Необходимо отметить, что белок TsrA является репрессором транскрипции не только генов СС6Т, но и основных генов вирулентности – *ctxAB* и *tcpA-F*, а также генов, участвующих в образовании биопленки [8, 39]. Высказано предположение, что появление мутации в гене *tsrA* в природных штаммах *V. cholerae* O1 биовара Эль Тор приведет к появлению гипервирулентного клона [40]. Также выявлено, что кроме TsrA репрессором СС6Т являются белок FliA, участвующий в биосинтезе жгутика, и протеаза LonA [41, 42].

Еще одним сигналом, оказывающим влияние на активность СС6Т, является хитин. Как известно, холерный вибрион хорошо сохраняется в воде открытых водоемов, образуя биопленку на фитопланк-

тоне и хитиновых поверхностях зоопланктона [43]. Хитин представляет собой полимер, состоящий из повторяющихся N-ацетилглюкозаминовых остатков (GlcNAc). Активно продуцируя хитиназы ChiA-1 и ChiA-2, *V. cholerae* разлагает хитин до мономерных остатков GlcNAc, которые усваиваются клетками и выступают в роли сигнальных молекул. В том числе GlcNAc индуцируют способность бактерий к трансформации чужеродной ДНК, увеличивая транскрипцию главного регулятора компетентности белка TfoX. Данный белок в свою очередь повышает транскрипцию генов большего кластера (рис. 3).

Транскрипцию генов, расположенных на дополнительных кластерах Auh-1 и Auh-2, контролирует регуляторный белок CytR, участвующий в метаболизме нуклеозидов. Сигналы от NapR, TfoX и CytR интегрируются глобальным регулятором QstR, экспрессии которого достаточно для активации СС6Т [5, 6, 13, 44].

Из других сигналов внешней среды, влияющих на экспрессию белков СС6Т, активно изучается повышение осмолярности среды (340 мМ NaCl) и снижение температуры (23 °С) (данные условия подобны тем, в которых находится холерный вибрион во внешней среде). Показано, что при культивировании токсигенных штаммов *V. cholerae* O1-серогруппы в данных условиях увеличивается не только транскрипция осморегулятора OsrR и белка теплового шока CspV, но и регистрируется активная экспрессия белков СС6Т. Например, транскрипция регуляторного белка VasH в токсигенном штамме *V. cholerae* A1552 O1 биовара Эль Тор увеличивалась в 2,0–2,5 раза и соответственно возрастала биосинтез и секреция гемолизина Hcp [20, 33, 45].

Необходимо отметить участие в активации СС6Т еще нескольких регуляторных комплексов по не изученному пока механизму. Так, в условиях низкого содержания глюкозы циклический аденозин монофосфат (сАМФ) связывается с глобальным регулятором CRP (сАМФ receptor protein), который увеличивает биосинтез белка Hcp [13, 46]. Недавно показано участие двухкомпонентной VxrAB-системы в позитивной регуляции экспрессии СС6Т [11].

Относительно экспрессии белков СС6Т при нахождении *V. cholerae* *in vivo* имеется очень мало данных. Показано влияние желчи, муцина и индола. Индол, присутствующий в высоких концентрациях в кишечном тракте млекопитающих, активирует экспрессию генов СС6Т *in vitro*, что может указывать на его участие в регуляции СС6Т и в организме человека [12, 47]. Муцин является основным компонентом слизистой оболочки кишечника. Он активирует СС6Т-опосредованный киллинг клеток-мишеней, в то время как соли желчных кислот оказывают подавляющее действие, ингибируя сборку СС6Т-аппарата [48]. Активировать или подавлять работу СС6Т, а также влиять на восприимчивость макроорганизма к возбудителю могут и другие вещества, вырабатываемые естественной микрофлорой

кишечника. Например, клетки *Bifidobacterium bifidum* способны превращать желчные кислоты в дезоксихолиевую кислоту, которая снижает активность СС6Т [48].

Таким образом, механизм функционирования СС6Т *V. cholerae* активно изучается, и проведение дальнейших исследований позволит лучше понять ее роль в процессах взаимодействия холерного вибриона с макроорганизмом, а также при его адаптации во внешней среде.

Конфликт интересов. Авторы подтверждают отсутствие конфликта финансовых/нефинансовых интересов, связанных с написанием статьи.

Список литературы

1. Kaper J.B., Morris J.G. Jr, Levine M.M. Cholera. *Clin. Microbiol. Rev.* 1995; 8(1):48–86. DOI: 10.1128/CMR.8.1.48.
2. Bingle L.E., Bailey C.M., Pallen M.J. Type VI secretion: a beginner's guide. *Curr. Opin. Microbiol.* 2008; 11(1):3–8. DOI: 10.1016/j.mib.2008.01.006.
3. Ma A.T., McAuley S., Pukatzki S., Mekalanos J.J. Translocation of a *Vibrio cholerae* type VI secretion effector requires bacterial endocytosis by host cells. *Cell Host Microbe.* 2009; 5(3):234–43. DOI: 10.1016/j.chom.2009.02.005.
4. Pukatzki S., Ma A.T., Sturtevant D., Krastins B., Sarracino D., Nelson W.C., Heidelberg J.F., Mekalanos J.J. Identification of a conserved bacterial protein secretion system in *Vibrio cholerae* using the *Dictyostelium* host model system. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2006; 103(5):1528–33. DOI: 10.1073/pnas.0510322103.
5. Watve S.S., Thomas J., Hammer B.K. CytR is a global positive regulator of competence, type VI secretion, and chitinases in *Vibrio cholerae*. *PLoS One.* 2015; 10(9):e0138834. DOI: 10.1371/journal.pone.0138834.
6. Borgeaud S., Metzger L.C., Scignari T., Blokesch M. The type VI secretion system of *Vibrio cholerae* fosters horizontal gene transfer. *Science.* 2015; 347:63–7. DOI: 10.1126/science.1260064.
7. Matthey N., Stutzmann S., Stoudmann C., Guex N., Iseli C., Blokesch M. Neighbor predation linked to natural competence fosters the transfer of large genomic regions in *Vibrio cholerae*. *eLife.* 2019; 8:e48212. DOI: 10.7554/eLife.48212.
8. Zheng J., Shin O.S., Cameron D.E., Mekalanos J.J. Quorum sensing and a global regulator TsrA control expression of type VI secretion and virulence in *Vibrio cholerae*. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2010; 107(49):21128–33. DOI: 10.1073/pnas.1014998107.
9. Fu Y., Waldor M.K., Mekalanos J.J. Tn-Seq analysis of *Vibrio cholerae* intestinal colonization reveals a role for T6SS-mediated antibacterial activity in the host. *Cell Host Microbe.* 2013; 14(6):652–63. DOI: 10.1016/j.chom.2013.11.001.
10. Монахова Е.В. Стратегия вирулентности холерных вибрионов и пути ее реализации (обзор). *Проблемы особо опасных инфекций.* 2013; 4:60–8. DOI: 10.21055/0370-1069-2013-4-60-68.
11. Cheng A.T., Ottemann K.M., Yildiz F.H. *Vibrio cholerae* response regulator VxrB controls colonization and regulates the type VI secretion system. *PLoS Pathog.* 2015; 11(5):e1004933. DOI: 10.1371/journal.ppat.1004933.
12. Joshi A., Kostiuik B., Rogers A., Teschler J., Pukatzki S., Yildiz F.H. Rules of engagement: the type VI secretion system in *Vibrio cholerae*. *Trend. Microbiol.* 2017; 25(4):267–79. DOI: 10.1016/j.tim.2016.12.003.
13. Crisan C.V., Hammer B.K. The *Vibrio cholerae* type VI secretion system: toxins, regulators and consequences. *Environ. Microbiol.* 2020; 22(10):4112–22. DOI: 10.1111/1462-2920.14976.
14. Schneider J.P., Nazarov S., Adaixo R., Liuzzo M., Ringel P.D., Stahlberg H., Basler M. Diverse roles of TssA-like proteins in the assembly of bacterial type VI secretion systems. *EMBO J.* 2019; 38(18):e100825. DOI: 10.15252/embj.2018100825.
15. Bernal P., Furniss R.C.D., Fecht S., Leung R.C.Y., Spiga L., Mavridou D.A.I., Filloux A. A novel stabilization mechanism for the type VI secretion system sheath. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2021; 118(7):e2008500118. DOI: 10.1073/pnas.2008500118.
16. Crisan C.V., Chande A.T., Williams K., Raghuram V., Rishishwar L., Steinbach G., Watve S.S., Yunker P., Jordan I.K., Hammer B.K. Analysis of *Vibrio cholerae* genomes identifies new type VI secretion system gene clusters. *Genome Biol.* 2019; 20(1):163. DOI: 10.1186/s13059-019-1765-5.
17. Bönemann G., Pietrosiuk A., Diemand A., Zentgraf H., Mogk A. Remodelling of VipA/VipB tubules by ClpV-mediated threading is crucial for type VI protein secretion. *EMBO J.* 2009; 28(4):315–25. DOI: 10.1038/emboj.2008.269.

18. Unterweger D., Miyata S.T., Bachmann V., Brooks T.M., Mullins T., Kostiuik B., Provenzano D., Pukatzki S. The *Vibrio cholerae* type VI secretion system employs diverse effector modules for intraspecific competition. *Nat. Commun.* 2014; 5:3549. DOI: 10.1038/ncomms4549.
19. Kirchberger P.C., Unterweger D., Provenzano D., Pukatzki S., Boucher Y. Sequential displacement of type VI secretion system effector genes leads to evolution of diverse immunity gene arrays in *Vibrio cholerae*. *Sci. Rep.* 2017; 7:45133. DOI: 10.1038/srep45133.
20. Seibt H., Aung K.M., Ishikawa T., Sjöström A., Gullberg M., Atkinson G.C., Wai S.N., Shingler V. Elevated levels of VCAO117 (VasH) in response to external signals activate the type VI secretion system of *Vibrio cholerae* O1 El Tor A1552. *Environ. Microbiol.* 2020; 22(10):4409–23. DOI: 10.1111/1462-2920.15141.
21. Bernard C.S., Brunet Y.R., Gavioli M., Llobès R., Cascales E. Regulation of type VI secretion gene clusters by sigma54 and cognate enhancer binding proteins. *J. Bacteriol.* 2011; 193(9):2158–67. DOI: 10.1128/JB.00029-11.
22. Kitaoka M., Miyata S.T., Brooks T.M., Unterweger D., Pukatzki S. VasH is a transcriptional regulator of the type VI secretion system functional in endemic and pandemic *Vibrio cholerae*. *J. Bacteriol.* 2011; 193(23):6471–82. DOI: 10.1128/JB.05414-11.
23. Смирнова Н.И., Крицкий А.А., Альхова Ж.В., Агафонова Е.Ю., Щелканова Е.Ю., Баданин Д.В., Кутырев В.В. Варибельность генома островов патогенности нетоксигенных штаммов *Vibrio cholerae* O1 биовара Эль Тор. *Генетика.* 2020; 56(9): 1018–33. DOI: 10.31857/S0016675820080147.
24. Zheng J., Ho B., Mekalanos J.J. Genetic analysis of anti-amoebae and anti-bacterial activities of the type VI secretion system in *Vibrio cholerae*. *PLoS One.* 2011; 6(8):e23876. DOI: 10.1371/journal.pone.0023876.
25. Dong T.G., Ho B.T., Yoder-Himes D.R., Mekalanos J.J. Identification of T6SS-dependent effector and immunity proteins by Tn-seq in *Vibrio cholerae*. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2013; 110(7):2623–8. DOI: 10.1073/pnas.1222783110.
26. Miyata S.T., Unterweger D., Rudko S.P., Pukatzki S. Dual expression profile of type VI secretion system immunity genes protects pandemic *Vibrio cholerae*. *PLoS Pathog.* 2013; 9(12):e1003752. DOI: 10.1371/journal.ppat.1003752.
27. Altindis E., Dong T., Catalano C., Mekalanos J. Secretome analysis of *Vibrio cholerae* type VI secretion system reveals a new effector-immunity pair. *mBio.* 2015; 6(2):e00075. DOI: 10.1128/mBio.00075-15.
28. Hersch S.J., Watanabe N., Stietz M.S., Manera K., Kamal F., Burkinshaw B., Lam L., Pun A., Li M., Savchenko A., Dong T.G. Envelope stress responses defend against type six secretion system attacks independently of immunity proteins. *Nat. Microbiol.* 2020; 5(5):706–14. DOI: 10.1038/s41564-020-0672-6.
29. Santoriello F.J., Pukatzki S. When the pandemic opts for the lockdown: Secretion system evolution in the cholera bacterium. *Microb. Cell.* 2021; 8(3):69–72. DOI: 10.15698/mic2021.03.744.
30. Santoriello F.J., Michel L., Unterweger D., Pukatzki S. Pandemic *Vibrio cholerae* shuts down site-specific recombination to retain an interbacterial defence mechanism. *Nat. Commun.* 2020; 11(1):6246. DOI: 10.1038/s41467020-20012-7.
31. Borenstein D.B., Ringe P., Basler M., Wingreen N.S. Established microbial colonies can survive type VI secretion assault. *PLoS Comput. Biol.* 2015; 11(10):e1004520. DOI: 10.1371/journal.pcbi.1004520.
32. Wong M., Liang X., Smart M., Tang L., Moore R., Ingalls B., Dong T.G. Microbial herd protection mediated by antagonistic interaction in polymicrobial communities. *Appl. Environ. Microbiol.* 2016; 82(23):6881–8. DOI: 10.1128/AEM.02210-16.
33. Ishikawa T., Sabharwal D., Bröms J., Milton D.L., Sjöstedt A., Uhlin B.E., Wai S.N. Pathoadaptive conditional regulation of the type VI secretion system in *Vibrio cholerae* O1 strains. *Infect. Immun.* 2012; 80(2):575–84. DOI: 10.1128/IAI.05510-11.
34. Metzger L.C., Stutzmann S., Scignari T., Van der Henst C., Matthey N., Blokesch M. Independent regulation of type VI secretion in *Vibrio cholerae* by TfoX and TfoY. *Cell Rep.* 2016; 15(5):951–8. DOI: 10.1016/j.celrep.2016.03.092.
35. Заднова С.П., Баданин Д.В., Плеханов Н.А., Полунина Т.А., Котова Н.В., Крицкий А.А., Федоров А.В., Краснов Я.М. Сравнительные протеомные профили типичного штамма и генетически измененного варианта *Vibrio cholerae* O1 серогруппы биовара Эль Тор. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2020; 3:150–3. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-3-150-153.
36. Waters C.M., Bassler B.L. Quorum sensing: cell-to-cell communication in bacteria. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 2005; 21:319–46. DOI: 10.1146/annurev.cellbio.21.012704.131001.
37. Higgins D.A., Pomianek M.E., Kraml C.M., Taylor R.K., Semmelhack M.F., Bassler B.L. The major *Vibrio cholerae* auto-inducer and its role in virulence factor production. *Nature.* 2007; 450:883–6. DOI: 10.1038/nature06284.
38. Shao Y., Bassler B.L. Quorum regulatory small RNAs repress type VI secretion in *Vibrio cholerae*. *Mol. Microbiol.* 2014; 92(5):921–30. DOI: 10.1111/mmi.12599.
39. Frederick A., Huang Y., Pu M., Rowe-Magnus D.A. *Vibrio cholerae* type VI activity alters motility behavior in mucin. *J. Bacteriol.* 2020; 202(24):e00261-20. DOI: 10.1128/JB.00261-20.
40. Caro F., Caro J.A., Place N.M., Mekalanos J.J. Transcriptional silencing by TsrA in the evolution of pathogenic *Vibrio cholerae* biotypes. *mBio.* 2020; 11(6):e02901-20. DOI: 10.1128/mBio.02901-20.
41. Syed K.A., Beyhan S., Correa N., Queen J., Liu J., Peng F., Satchell K.J.F., Yildiz F., Klose K.E. The *Vibrio cholerae* flagellar regulatory hierarchy controls expression of virulence factors. *J. Bacteriol.* 2009; 191(21):6555–70. DOI: 10.1128/JB.00949-09.
42. Liu Z., Miyashiro T., Tsou A., Hsiao A., Goulian M., Zhu J. Mucosal penetration primes *Vibrio cholerae* for host colonization by repressing quorum sensing. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2008; 105(28):9769–74. DOI: 10.1073/pnas.0802241105.
43. Vezzulli L., Pruzzo C., Huq A., Colwell R.R. Environmental reservoirs of *Vibrio cholerae* and their role in cholera. *Environ. Microbiol. Rep.* 2010; 2(1):27–33. DOI: 10.1111/j.1758-2229.2009.00128.x.
44. Meibom K.L., Blokesch M., Dolganov N.A., Wu C.Y., Schoolnik G.K. Chitin induces natural competence in *Vibrio cholerae*. *Science.* 2005; 310:1824–7. DOI: 10.1126/science.1120096.
45. Townsley L., Mangus M.P.S., Mehic S., Yildiz F.H. Response of *Vibrio cholerae* to low-temperature shifts: CspV regulation of type VI secretion, biofilm formation, and association with zooplankton. *Appl. Environ. Microbiol.* 2016; 82(14):4441–52. DOI: 10.1128/AEM.00807-16.
46. Ishikawa T., Rompikuntal P.K., Lindmark B., Milton D.L., Wai S.N. Quorum sensing regulation of the two *hcp* alleles in *Vibrio cholerae* O1 strains. *PLoS One.* 2009; 4(8):e6734. DOI: 10.1371/journal.pone.0006734.
47. Mueller R.S., Beyhan S., Saini S.G., Yildiz F.H., Bartlett D.H. Indole acts as an extracellular cue regulating gene expression in *Vibrio cholerae*. *J. Bacteriol.* 2009; 191(11):3504–16. DOI: 10.1128/JB.01240-08.
48. Bachmann V., Kostiuik B., Unterweger D., Diaz-Satizabal L., Ogg S., Pukatzki S. Bile salts modulate the mucin-activated type VI secretion system of pandemic *Vibrio cholerae*. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2015; 9(8):e0004031. DOI: 10.1371/journal.pntd.0004031.

References

1. Kaper J.B., Morris J.G. Jr, Levine M.M. Cholera. *Clin. Microbiol. Rev.* 1995; 8(1):48–86. DOI: 10.1128/CMR.8.1.48.
2. Bingle L.E., Bailey C.M., Pallen M.J. Type VI secretion: a beginner's guide. *Curr. Opin. Microbiol.* 2008; 11(1):3–8. DOI: 10.1016/j.mib.2008.01.006.
3. Ma A.T., McAuley S., Pukatzki S., Mekalanos J.J. Translocation of a *Vibrio cholerae* type VI secretion effector requires bacterial endocytosis by host cells. *Cell Host Microbe.* 2009; 5(3):234–43. DOI: 10.1016/j.chom.2009.02.005.
4. Pukatzki S., Ma A.T., Sturtevant D., Krastins B., Sarracino D., Nelson W.C., Heidelberg J.F., Mekalanos J.J. Identification of a conserved bacterial protein secretion system in *Vibrio cholerae* using the *Dictyostelium* host model system. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2006; 103(5):1528–33. DOI: 10.1073/pnas.0510322103.
5. Watve S.S., Thomas J., Hammer B.K. CytR is a global positive regulator of competence, type VI secretion, and chitinases in *Vibrio cholerae*. *PLoS One.* 2015; 10(9):e0138834. DOI: 10.1371/journal.pone.0138834.
6. Borgeaud S., Metzger L.C., Scignari T., Blokesch M. The type VI secretion system of *Vibrio cholerae* fosters horizontal gene transfer. *Science.* 2015; 347:63–7. DOI: 10.1126/science.1260064.
7. Matthey N., Stutzmann S., Stoudmann C., Guex N., Iseli C., Blokesch M. Neighbor predation linked to natural competence fosters the transfer of large genomic regions in *Vibrio cholerae*. *eLife.* 2019; 8:e48212. DOI: 10.7554/eLife.48212.
8. Zheng J., Shin O.S., Cameron D.E., Mekalanos J.J. Quorum sensing and a global regulator TsrA control expression of type VI secretion and virulence in *Vibrio cholerae*. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2010; 107(49):21128–33. DOI: 10.1073/pnas.1014998107.
9. Fu Y., Waldor M.K., Mekalanos J.J. Tn-seq analysis of *Vibrio cholerae* intestinal colonization reveals a role for T6SS-mediated antibacterial activity in the host. *Cell Host Microbe.* 2013; 14(6):652–63. DOI: 10.1016/j.chom.2013.11.001.
10. Monakhova E.V. [Cholera vibrio virulence strategy and ways of its realization (scientific review)]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections].* 2013; (4):60–8. DOI: 10.21055/0370-1069-2013-4-60-68.
11. Cheng A.T., Ottemann K.M., Yildiz F.H. *Vibrio cholerae* response regulator VxrB controls colonization and regulates the type VI secretion system. *PLoS Pathog.* 2015; 11(5):e1004933. DOI: 10.1371/journal.ppat.1004933.
12. Joshi A., Kostiuik B., Rogers A., Teschler J., Pukatzki S., Yildiz F.H. Rules of engagement: the type VI secretion system in *Vibrio cholerae*. *Trend. Microbiol.* 2017; 25(4):267–79. DOI: 10.1016/j.tim.2016.12.003.

13. Crisan C.V., Hammer B.K. The *Vibrio cholerae* type VI secretion system: toxins, regulators and consequences. *Environ. Microbiol.* 2020; 22(10):4112–22. DOI: 10.1111/1462-2920.14976.
14. Schneider J.P., Nazarov S., Adaixo R., Liuzzo M., Ringel P.D., Stahlberg H., Basler M. Diverse roles of TssA-like proteins in the assembly of bacterial type VI secretion systems. *EMBO J.* 2019; 38(18):e100825. DOI: 10.15252/emj.2018100825.
15. Bernal P., Furniss R.C.D., Fecht S., Leung R.C.Y., Spiga L., Mavridou D.A.I., Filloux A. A novel stabilization mechanism for the type VI secretion system sheath. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2021; 118(7):e2008500118. DOI: 10.1073/pnas.2008500118.
16. Crisan C.V., Chande A.T., Williams K., Raghuram V., Rishishwar L., Steinbach G., Watve S.S., Yunker P., Jordan I.K., Hammer B.K. Analysis of *Vibrio cholerae* genomes identifies new type VI secretion system gene clusters. *Genome Biol.* 2019; 20(1):163. DOI: 10.1186/s13059-019-1765-5.
17. Bönenmann G., Pietrosiuk A., Diemand A., Zentgraf H., Mogk A. Remodelling of VipA/VipB tubules by ClpV-mediated threading is crucial for type VI protein secretion. *EMBO J.* 2009; 28(4):315–25. DOI: 10.1038/emboj.2008.269.
18. Unterweger D., Miyata S.T., Bachmann V., Brooks T.M., Mullins T., Kostiuik B., Provenzano D., Pukatzki S. The *Vibrio cholerae* type VI secretion system employs diverse effector modules for intraspecific competition. *Nat. Commun.* 2014; 5:3549. DOI: 10.1038/ncomms4549.
19. Kirchberger P.C., Unterweger D., Provenzano D., Pukatzki S., Boucher Y. Sequential displacement of type VI secretion system effector genes leads to evolution of diverse immunity gene arrays in *Vibrio cholerae*. *Sci. Rep.* 2017; 7:45133. DOI: 10.1038/srep45133.
20. Seibt H., Aung K.M., Ishikawa T., Sjöström A., Gullberg M., Atkinson G.C., Wai S.N., Shingler V. Elevated levels of VCA0117 (VasH) in response to external signals activate the type VI secretion system of *Vibrio cholerae* O1 El Tor A1552. *Environ. Microbiol.* 2020; 22(10):4409–23. DOI: 10.1111/1462-2920.15141.
21. Bernard C.S., Brunet Y.R., Gavioli M., Llobès R., Cascales E. Regulation of type VI secretion gene clusters by sigma54 and cognate enhancer binding proteins. *J. Bacteriol.* 2011; 193(9):2158–67. DOI: 10.1128/JB.00029-11.
22. Kitaoka M., Miyata S.T., Brooks T.M., Unterweger D., Pukatzki S. VasH is a transcriptional regulator of the type VI secretion system functional in endemic and pandemic *Vibrio cholerae*. *J. Bacteriol.* 2011; 193(23):6471–82. DOI: 10.1128/JB.05414-11.
23. Smirnova N.I., Kritsky A.A., Al'khova J.V., Agafonova E.Yu., Shchelkanova E.Yu., Badanin D.V., Kutyrev V.V. [Genomic variability of pathogenicity islands in nontoxicogenic strains of *Vibrio cholerae* O1 biovar El Tor]. *Russian J. Genetics.* 2020; 56(9):1018–33. DOI: 10.31857/S0016675820080147.
24. Zheng J., Ho B., Mekalanos J.J. Genetic analysis of anti-amoebae and anti-bacterial activities of the type VI secretion system in *Vibrio cholerae*. *PLoS One.* 2011; 6(8):e23876. DOI: 10.1371/journal.pone.0023876.
25. Dong T.G., Ho B.T., Yoder-Himes D.R., Mekalanos J.J. Identification of T6SS-dependent effector and immunity proteins by Tn-seq in *Vibrio cholerae*. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2013; 110(7):2623–8. DOI: 10.1073/pnas.1222783110.
26. Miyata S.T., Unterweger D., Rudko S.P., Pukatzki S. Dual expression profile of type VI secretion system immunity genes protects pandemic *Vibrio cholerae*. *PLoS Pathog.* 2013; 9(12):e1003752. DOI: 10.1371/journal.ppat.1003752.
27. Altindis E., Dong T., Catalano C., Mekalanos J. Secretome analysis of *Vibrio cholerae* type VI secretion system reveals a new effector-immunity pair. *mBio.* 2015; 6(2):e00075. DOI: 10.1128/mBio.00075-15.
28. Hersch S.J., Watanabe N., Stietz M.S., Manera K., Kamal F., Burkinshaw B., Lam L., Pun A., Li M., Savchenko A., Dong T.G. Envelope stress responses defend against type six secretion system attacks independently of immunity proteins. *Nat. Microbiol.* 2020; 5(5):706–14. DOI: 10.1038/s41564-020-0672-6.
29. Santoriello F.J., Pukatzki S. When the pandemic opts for the lockdown: Secretion system evolution in the cholera bacterium. *Microb. Cell.* 2021; 8(3):69–72. DOI: 10.15698/mic2021.03.744.
30. Santoriello F.J., Michel L., Unterweger D., Pukatzki S. Pandemic *Vibrio cholerae* shuts down site-specific recombination to retain an interbacterial defence mechanism. *Nat. Commun.* 2020; 11(1):6246. DOI: 10.1038/s41467020-20012-7.
31. Borenstein D.B., Ringe P., Basler M., Wingreen N.S. Established microbial colonies can survive type VI secretion assault. *PLoS Comput. Biol.* 2015; 11(10):e1004520. DOI: 10.1371/journal.pcbi.1004520.
32. Wong M., Liang X., Smart M., Tang L., Moore R., Ingalls B., Dong T.G. Microbial herd protection mediated by antagonistic interaction in polymicrobial communities. *Appl. Environ. Microbiol.* 2016; 82(23):6881–8. DOI: 10.1128/AEM.02210-16.
33. Ishikawa T., Sabharwal D., Bröms J., Milton D.L., Sjöstedt A., Uhlin B.E., Wai S.N. Pathoadaptive conditional regulation of the type VI secretion system in *Vibrio cholerae* O1 strains. *Infect. Immun.* 2012; 80(2):575–84. DOI: 10.1128/IAI.05510-11.
34. Metzger L.C., Stutzmann S., Scignari T., Van der Henst C., Matthey N., Blokesch M. Independent regulation of type VI secretion in *Vibrio cholerae* by TfoX and TfoY. *Cell Rep.* 2016; 15(5):951–8. DOI: 10.1016/j.celrep.2016.03.092.
35. Zadnova S.P., Badanin D.V., Plekhanov N.A., Polunina T.A., Kotova N.V., Kritsky A.A., Fedorov A.V., Krasnov Ya.M. [Comparative proteomic profiles of typical strain and genetically altered variant of *Vibrio cholerae* O1, biovar El Tor]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2020; (3):150–3. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-3-150-153.
36. Waters C.M., Bassler B.L. Quorum sensing: cell-to-cell communication in bacteria. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 2005; 21:319–46. DOI: 10.1146/annurev.cellbio.21.012704.131001.
37. Higgins D.A., Pomianek M.E., Kraml C.M., Taylor R.K., Semmelhack M.F., Bassler B.L. The major *Vibrio cholerae* auto-inducer and its role in virulence factor production. *Nature.* 2007; 450:883–6. DOI: 10.1038/nature06284.
38. Shao Y., Bassler B.L. Quorum regulatory small RNAs repress type VI secretion in *Vibrio cholerae*. *Mol. Microbiol.* 2014; 92(5):921–30. DOI: 10.1111/mmi.12599.
39. Frederick A., Huang Y., Pu M., Rowe-Magnus D.A. *Vibrio cholerae* type VI activity alters motility behavior in mucin. *J. Bacteriol.* 2020; 202(24):e00261-20. DOI: 10.1128/JB.00261-20.
40. Caro F., Caro J.A., Place N.M., Mekalanos J.J. Transcriptional silencing by TsrA in the evolution of pathogenic *Vibrio cholerae* biotypes. *mBio.* 2020; 11(6):e02901-20. DOI: 10.1128/mBio.02901-20.
41. Syed K.A., Beyhan S., Correa N., Queen J., Liu J., Peng F., Satchell K.J.F., Yildiz F., Klose K.E. The *Vibrio cholerae* flagellar regulatory hierarchy controls expression of virulence factors. *J. Bacteriol.* 2009; 191(21):6555–70. DOI: 10.1128/JB.00949-09.
42. Liu Z., Miyashiro T., Tsou A., Hsiao A., Goulian M., Zhu J. Mucosal penetration primes *Vibrio cholerae* for host colonization by repressing quorum sensing. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2008; 105(28):9769–74. DOI: 10.1073/pnas.0802241105.
43. Vezzulli L., Pruzzo C., Huq A., Colwell R.R. Environmental reservoirs of *Vibrio cholerae* and their role in cholera. *Environ. Microbiol. Rep.* 2010; 2(1):27–33. DOI: 10.1111/j.1758-2229.2009.00128.x.
44. Meibom K.L., Blokesch M., Dolganov N.A., Wu C.Y., Schoolnik G.K. Chitin induces natural competence in *Vibrio cholerae*. *Science.* 2005; 310:1824–7. DOI: 10.1126/science.1120096.
45. Townsley L., Mangus M.P.S., Mehic S., Yildiz F.H. Response of *Vibrio cholerae* to low-temperature shifts: CspV regulation of type VI secretion, biofilm formation, and association with zooplankton. *Appl. Environ. Microbiol.* 2016; 82(14):4441–52. DOI: 10.1128/AEM.00807-16.
46. Ishikawa T., Rompikuntal P.K., Lindmark B., Milton D.L., Wai S.N. Quorum sensing regulation of the two *hcp* alleles in *Vibrio cholerae* O1 strains. *PLoS One.* 2009; 4(8):e6734. DOI: 10.1371/journal.pone.0006734.
47. Mueller R.S., Beyhan S., Saini S.G., Yildiz F.H., Bartlett D.H. Indole acts as an extracellular cue regulating gene expression in *Vibrio cholerae*. *J. Bacteriol.* 2009; 191(11):3504–16. DOI: 10.1128/JB.01240-08.
48. Bachmann V., Kostiuik B., Unterweger D., Diaz-Satizabal L., Ogg S., Pukatzki S. Bile salts modulate the mucin-activated type VI secretion system of pandemic *Vibrio cholerae*. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2015; 9(8):e0004031. DOI: 10.1371/journal.pntd.0004031.

Authors:

Zadnova S.P., Plekhanov N.A., Kritsky A.A. Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe". 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrap@microbe.ru.

Kul'shan' T.A., Shvidenko I.G. Saratov State Medical University named after V.I. Razumovsky. 112, Bol'shaya Kazachya St., 410012, Saratov, Russian Federation. E-mail: meduniv@sgmu.ru.

Об авторах:

Заднова С.П., Плеханов Н.А., Критский А.А. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrap@microbe.ru.

Кульшань Т.А., Швиденко И.Г. Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского. Российская Федерация, 410012, Саратов, ул. Большая Казачья, 112. E-mail: meduniv@sgmu.ru.