

СЕРИН-ТРЕОНИНОВЫЕ ПРОТЕИНКИНАЗЫ БАКТЕРИЙ — ПОТЕНЦИАЛЬНАЯ МИШЕНЬ ДЛЯ РЕГУЛЯЦИИ СОСТАВА МИКРОБИОТЫ ЧЕЛОВЕКА

Н. В. Захаревич¹✉, В. Н. Даниленко^{1,2}

¹ Лаборатория генетики микроорганизмов, Институт общей генетики имени Н. И. Вавилова РАН, Москва

² Кафедра биоинформатики, факультет биологической и медицинской физики, Московский физико-технический институт (государственный университет), Долгопрудный

Серин-треониновые протеинкиназы (СТПК) участвуют в передаче сигналов у бактерий, вовлечены в процессы роста и деления клетки, образование биопленок и формирование вирулентности. Они встречаются как у патогенных бактерий, так и у симбионтов микробиоты человека. Нами была разработана классификация СТПК грамположительных бактерий, в основе которой лежит сигнатура из 9 аминокислотных остатков, расположенных в области связывания аденина. На основе сигнатуры протеинкиназы и содержащие их роды и виды бактерий были разделены на 20 групп. Было выдвинуто предположение, что СТПК с одинаковой сигнатурой будут взаимодействовать со сходными низкомолекулярными веществами, которые могут быть использованы в качестве селективных ингибиторов СТПК для снижения скорости роста и вирулентности определенных групп бактерий кишечной микробиоты (КМ) человека. КМ, представленная более чем 400 видами бактерий, играет ключевую роль в поддержании гомеостаза организма человека. В норме состав КМ сбалансирован по видам и родам, но при различных заболеваниях таксономический баланс нарушается. Предполагается, что такого рода изменения могут являться триггерами заболеваний. В связи с этим разрабатываются различные подходы по регуляции состава микробиоты человека. В статье предложена концепция, основанная на использовании ингибиторов бактериальных СТПК в качестве «мягкой силы» для коррекции таксономического дисбаланса КМ, вызванного неинфекционными заболеваниями, а также для воздействия на патогенные микроорганизмы (снижения их вирулентности) при минимальном воздействии на протеинкиназы человека.

Ключевые слова: кишечная микробиота, серин-треониновые протеинкиназы, классификация, селективные ингибиторы, грамположительные бактерии

✉ **Для корреспонденции:** Захаревич Наталья Владимировна
ул. Губкина, д. 3, г. Москва, 119991; zakharevich@yandex.ru

Статья получена: 28.03.2017 **Статья принята к печати:** 07.04.2017

SERINE/THREONINE PROTEIN KINASES OF BACTERIA ARE POTENTIAL TARGETS FOR REGULATION OF HUMAN MICROBIOTA COMPOSITION

Zakharevich NV¹✉, Danilenko VN^{1,2}

¹ Laboratory of Bacterial Genetics, Vavilov Institute of General Genetics of RAS, Moscow, Russia

² Department of Bioinformatics, Faculty of Biological and Medical Physics, Moscow Institute of Physics and Technology (State University), Dolgoprudny

Serine/threonine protein kinases (STPKs) of bacteria are involved in signal transduction, cell growth and division, biofilm formation and virulence regulation. They are found in both pathogenic microbes and symbiotic residents of the human microbiota. Previously we proposed a classification scheme for STPKs of gram-positive bacteria based on the signature sequence of 9 amino acid residues in the ATP-binding pocket. Accordingly, protein kinases and bacterial species that contained those kinases were divided into 20 groups. We hypothesized that STPKs with identical signatures would interact with the same low-molecular-weight compounds that could be used as selective inhibitors of STPK to suppress growth and virulence of certain residents of the human gut microbiota (GM). GM represented by over 400 bacterial species is critical in maintaining homeostasis in the human body. In healthy individuals GT composition is balanced in terms of genera/species abundance. Shifts in the GT composition are thought to trigger pathology. In this connection various approaches are being developed to regulating the composition of the human microbiota. This article proposes the use of bacterial STPK inhibitors as “gentle” therapeutic agents for correcting taxonomic imbalances of GM triggered by non-infectious diseases and reducing virulence of pathogenic microbes with minimal impact on human protein kinases.

Keywords: gut microbiota, serine-threonine protein kinases, classification, selective inhibitors, gram-positive bacteria

✉ **Correspondence should be addressed:** Natalia Zakharevich
ul. Gubkina, 3, Moscow, Russia, 119991; zakharevich@yandex.ru

Received: 28.03.2017 **Accepted:** 07.04.2017

Взаимодействие кишечной микробиоты и организма хозяина

Микробиота человека — это эволюционно сложившееся сообщество микроорганизмов, обитающих в организме (на коже, в мочеполовой системе, желудочно-кишечном тракте (ЖКТ) и т. д.) и являющихся его нормальным и необходимым компонентом. Микроорганизмы, составляющие микробиоту, являются симбионтами и поддерживают нормальное функционирование как организма хозяина, так и самого микробного сообщества. Самая крупная популяция микроорганизмов-симбионтов обитает в толстом отделе кишечника: в нем сконцентрировано около 60 % всей микрофлоры человека [1, 2]. Состав микробиоты и ее функции зависят от пола и возраста человека, характера питания, экологических и социальных условий жизни, а также от состояния здоровья человека и приема им различных лекарственных средств, в том числе антибиотиков [3, 4].

Микробиота, в частности, кишечная микробиота, способна существенно влиять на здоровье человека. Являясь основным резервуаром микроорганизмов, биоценоз тонкого и толстого отделов кишечника воздействует на работу не только ЖКТ, но и других жизненно важных органов и систем [1, 5]. Одной из наиболее значимых функций кишечной микробиоты является ее активное участие в формировании колонизационной резистентности организма хозяина. Эта функция выработалась в ходе длительного эволюционного взаимодействия человека и микроорганизмов, при котором шел непрерывный селективный отбор наиболее адаптированных бактериальных популяций. Помимо этого, кишечная микробиота способна активизировать иммунную, гормональную и нервную (включая мозг) системы хозяина. Иммуностимулирующая функция микробиоты обусловлена в первую очередь бифидобактериями и лактобациллами [1, 6]. Кишечная микробиота также участвует в синтезе биологически активных веществ — витаминов и гормонов; вовлечена в метаболизм белков, липидов, углеводов и нуклеиновых кислот; регулирует газовый состав кишечника и др. [4].

Изменения в кишечной микробиоте, вызванные внешними факторами, могут быть причиной дисбактериоза, характеризующегося увеличением числа потенциально патогенных организмов (патобионтов) [2, 7], а также могут приводить к возникновению различных метаболических и воспалительных заболеваний, висцеральных болей и даже опосредованных изменений в функционировании центральной нервной системы (ЦНС), которые, в свою очередь, могут быть причиной поведенческих и когнитивных нарушений [2, 8–10]. Также известно, что изменения в составе микробиоты кишечника часто сопутствуют таким заболеваниям, как ожирение, аллергия, диабет 2 типа, заболеваниям сердечно-сосудистой системы и аутоиммунным нарушениям [2, 11]. Число факторов, негативно воздействующих на состав и функционирование микробиоты человека, с каждым годом только возрастает: загрязнение окружающей среды (жизнь в мегаполисах) [12], неправильное питание (рост популярности фаст-фуда) [13], стрессы [14]. Известно также, что развитие дисбиотических расстройств кишечника может быть в большой степени обусловлено антибактериальной терапией, которая зачастую является причиной гибели ценной для человека симбионтной микрофлоры и стимулирует искусственную селекцию болезнетворных антибиотико-резистентных штаммов [1].

Симбиотические отношения между организмом хозяина и его микробиотой крайне важны. Микробное сообщество ЖКТ человека является чутким индикатором физиологического состояния организма хозяина, реагирующим на многие факторы [1, 4]. В связи с этим микробиота может быть рассмотрена в качестве потенциальной терапевтической мишени для лечения и/или коррекции различных патологий, в том числе дисбиотических состояний. Существуют различные подходы и стратегии по регуляции микробиома человека: диеты, употребление про- и пребиотиков, хирургические вмешательства. Некоторые авторы описывают положительное воздействие на состояние кишечной микробиоты физических нагрузок в сочетании с функциональной диетой [15, 16]. Мы предлагаем использовать селективные ингибиторы, воздействующие на отдельные бактериальные роды и/или даже виды, — замедляющие рост бактерий, снижающие вирулентность патогенных и условно-патогенных микроорганизмов и способствующие таким образом восстановлению таксономического состава кишечной микробиоты. Мишенью для таких ингибиторов у бактерий могут служить серин-треониновые протеинкиназы (СТПК) эукариотического типа.

Классификация СТПК грамположительных бактерий

Фосфорилирование и дефосфорилирование белка являются одними из основных механизмов регуляции различных молекулярных процессов в клетке. В среднем бактериальный фосфопротеом содержит порядка ста сайтов фосфорилирования. Заметным исключением, известным на сегодняшний день, является фосфопротеом *Mycobacterium tuberculosis*, содержащий около 500 сайтов [17]. Для эукариотических фосфопротеомов эти числа на порядок больше [18].

Как у бактерий, так и у человека серин-треониновые протеинкиназы являются одними из основных компонентов систем передачи сигналов [19, 20]. СТПК эукариотического типа были идентифицированы в бактериях [21–25] около 20 лет назад. На сегодняшний день известно, что они участвуют в регуляции таких важных процессов, как деление и рост клетки [26–28], образование биопленок [29], ответ на окислительный стресс [30], спорообразование [31]. СТПК играют важную роль в формировании вирулентности и патогенности у болезнетворных бактерий [21, 32, 33]. Эти ферменты также участвуют в патогенезе заболеваний, вызываемых различными микроорганизмами, например *M. tuberculosis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* и др. [20, 25].

Молекулярный механизм ингибирования СТПК — это конкурентное взаимодействие веществ с сайтом связывания АТФ. По этой причине селективное ингибирование СТПК патогенных и условно-патогенных микроорганизмов АТФ-конкурентными ингибиторами представляет собой привлекательный подход по коррекции состава и функционального состояния микробиоты человека.

Ранее нами была предложена классификация СТПК эукариотического типа грамположительных бактерий [19]. В работе были рассмотрены СТПК различных групп микроорганизмов: патогенных и непатогенных представителей родов *Mycobacterium*, *Staphylococcus*, *Actinomyces* и др. и пробиотических представителей симбионтной микробиоты человека родов *Bifidobacterium* и *Lactobacillus*. В основу классификации лег анализ физико-химических свойств 9 аминокислотных остатков, экспонированных

в область связывания аденина. Аминокислотные остатки отбирали по результатам визуального анализа пространственных структур бактериальных СТПК, доступных в банке данных Protein Data Bank [34] и параллельно проводили анализ аминокислотных последовательностей бактериальных СТПК (в том числе было выполнено множественное выравнивание всех последовательностей бактериальных протеинкиназ) [19].

При анализе структур СТПК были идентифицированы аминокислотные остатки, взаимодействующие с АТФ. Особое внимание было уделено области связывания аденина — структурно более вариабельной по сравнению с областями связывания фосфата и рибозы. Неинформативные для классификации аминокислотные остатки, например консервативные для всех рассмотренных структур или вносящие вклад в связывание АТФ только атомами своей основной цепи, были исключены из рассмотрения. При анализе последовательностей СТПК грамположительных бактерий высококонсервативные аминокислотные остатки, характерные как для эукариотических, так и для бактериальных протеинкиназ, нами не рассматривались, а особое внимание было уделено заменам в консервативных для эукариотических киназ позициях, не влияющим на функциональность бактериальных киназ. При анализе последовательностей каталитических доменов бактериальных СТПК наше внимание также привлек V-субдомен (СТПК содержат 12 консервативных субдоменов, характерных как для эукариотических, так и для бактериальных СТПК [35, 36]). У эукариотических протеинкиназ V-субдомен — довольно вариабельная область по сравнению с другими субдоменами, не содержащая какого-либо консервативного мотива. Однако в V-субдоме расположены аминокислотные остатки, входящие в состав шарнирного участка, соединяющего две доли каталитического домена, и, меняя ориентацию каталитического и белок-связывающего участков, можно регулировать активность СТПК. В связи с этим V-субдомен, в частности, последовательность, относящаяся к шарнирному участку, представляет интерес для создания функциональной классификации СТПК.

Таким образом, по результатам визуального анализа структур СТПК и их аминокислотных последовательностей нами были отобраны 9 вариабельных аминокислотных остатков, боковые цепи которых экспонированы в область связывания аденина: Leu17, Val25, Ala38, Val72, Met92, Tyr94, Val95, Met145 и Met155 (остатки пронумерованы в соответствии с СТПК PknB *M. tuberculosis*) (рис. 1).

Выбранные остатки составили «сигнатуру» аденин-связывающего кармана. Консервативность рассматриваемых сигнатурных остатков различна. На основе анализа сигнатуры из 9 аминокислотных остатков и была проведена классификация СТПК грамположительных бактерий. По итогам классификации все киназы были разделены на 20 групп (рис. 2). Стоит отметить, что главным критерием группировки было наличие специфичной комбинации доноров/акцепторов водородной связи и ароматических остатков в конкретных положениях сигнатуры аденин-связывающего кармана. Тринадцать из 20 групп оказались родоспецифичными, а некоторые из оставшихся семи групп содержали представителей только патогенных микроорганизмов [19]. Таким образом, классификация СТПК также позволила разделить исследуемые бактериальные роды и виды на группы. Так как для каждой группы характерна специфичная конфигурация области связывания аденина (форма, объем и глубина области связывания), то было

выдвинуто предположение, что селективные ингибиторы, нацеленные на одну из групп, не будут (или будут очень слабо) взаимодействовать с киназами из других групп. В связи с этим, практическим применением классификации может стать ее использование при разработке АТФ-конкурентных ингибиторов бактериальных СТПК эукариотического типа.

Возможности практического применения разработанной классификации: селективные ингибиторы СТПК

В настоящее время интенсивно изучается состав кишечной микробиоты. По предварительным оценкам, экосистема толстой кишки человека содержит более 400 видов бактерий, принадлежащих ограниченному числу таксономических групп [37, 38]. Как правило, представители таких бактериальных типов, как *Firmicutes*, *Bacteroides*, *Actinobacteria* и *Proteobacteria*, составляют значительную часть микробного сообщества, обитающего в кишечнике взрослого человека [39]. Однако для каждого индивида характерно, по-видимому, уникальное микробное сообщество [37, 40, 41], которое способно значительно меняться под воздействием различных эндо- и экзогенных факторов.

При различных дисбиотических состояниях снижается уровень пробиотической составляющей кишечной микробиоты и происходит рост патогенной микрофлоры, что приводит, в свою очередь, к различным патологиям [5]. На сегодняшний день показана взаимосвязь между микробиотой ЖКТ и многочисленными заболеваниями. Morgan и соавт., например, выявили корреляцию между дисбалансом кишечной микробиоты и такими заболеваниями, как язвенный колит и болезнь Крона [42]. В то время как у здоровых людей преобладают четыре основных бактериальных типа [37, 43], у пациентов с этими патологиями, во-первых, сокращается таксономическое разнообразие родов и видов, и, во-вторых, отмечается более низкая доля

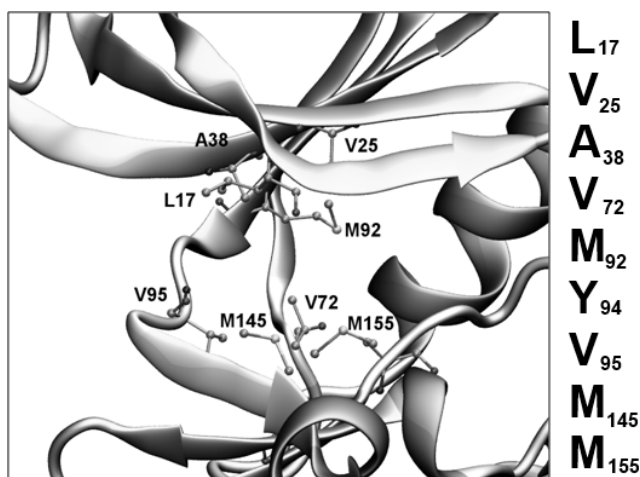


Рис. 1. На рисунке схематично представлена область связывания аденина, подписаны аминокислотные остатки, составляющие сигнатуру (Tyr94 на рисунке не виден). Первые три остатка расположены в глициновой петле (остатки 17–38) и формируют «потолок» аденин-связывающего кармана; остатки Val72, Met145 и Met155 формируют «пол» аденин-связывающего кармана. Последовательность шарнира состоит из остатков 92–96 (Met92 является остатком-«привратником» — gatekeeper), но остатки 93 и 96 участвуют в связывании лиганда только атомами главной цепи, вследствие чего были исключены из рассмотрения

(представленность) типа *Firmicutes*. Вдобавок при болезни Крона изменяются пропорции в представленности родов класса *Clostridia* [42, 44]. Исследования различных типов псориаза также показали снижение таксономического разнообразия в кишечной микробиоте при этом заболевании, причем изменения были ассоциированы с увеличением численности четырех бактериальных родов, в том числе *Corynebacterium*, *Staphylococcus* и *Streptococcus* [45].

Помимо этого, многочисленные данные свидетельствуют о наличии связи между различными метаболическими заболеваниями и изменениями в составе бактериальных популяций, населяющих ЖКТ. Так, в работе Larsen и соавт. были оценены различия между кишечной микрофлорой людей, страдающих диабетом 2 типа, и лиц без диабета [46]. Было установлено, что у диабетиков значительно снижено количество бактерий типа *Firmicutes* и класса *Clostridia* и повышено количество бактерий рода *Lactobacillus* по сравнению со здоровыми людьми [46]. Дело в том, что род *Lactobacillus* представляет собой гетерогенную группу микроорганизмов, обладающих иммуномодулирующими свойствами [47], которые, вероятно, и обуславливают воспаление у больных сахарным диабетом [46]. В исследованиях Тапа и соавт. у пациентов с синдромом раздраженного кишечника (СРК) также была выявлена достоверно более высокая численность бактерий рода *Lactobacillus*, чем у пациентов из контрольной группы [48]. Для пациентов с болезнью Крона и язвенным колитом, напротив, наличие ряда штаммов рода *Lactobacillus* необходимо. При исследованиях воспаленных образцов слизистых оболочек от пациентов с этими патологиями был обнаружен ряд необходимых микроорганизмов (в том числе рода *Lactobacillus* и *Bifidobacterium*), которые способны фактически защищать слизистую оболочку ки-

шечника от различных воспалительных реакций, нежелательных для организма хозяина. Это связано с тем, что часть штаммов рода *Lactobacillus*, в частности, *L. casei* и *L. plantarum* подавляют экспрессию ключевых провоспалительных цитокинов и хемокинов и нейтрализуют провоспалительные эффекты, вызванные *Escherichia coli* [49].

Учитывая вышеописанное, для восстановления нормального таксономического состава микробиоты можно, используя разработанную классификацию, избирательно влиять, например, на группу бактерий рода *Lactobacillus* (XIII) [19] в случае диабета 2 типа и СРК или на группу бактерий родов *Corynebacterium*, *Staphylococcus* и *Streptococcus* (IV, X) при псориазе.

Кроме того, большинство СТПК являются ключевыми регуляторами роста бактерий: их ингибирование может приводить к замедлению роста микроорганизмов. Воздействуя селективными ингибиторами на группы СТПК, включающие СТПК симбионтов человека, можно менять состав кишечной микрофлоры человека, не убивая при этом «свои» микроорганизмы, а лишь замедляя их рост и функционирование. Примером такого воздействия может служить ингибирование роста бактерий, относящихся к группам III и IV разработанной классификации, — условно-патогенных представителей нормальной микрофлоры человека родов *Actinomyces* и *Corynebacterium* [19]. Таким образом, подбирая ингибиторы для СТПК определенных групп микроорганизмов, можно пытаться регулировать состав человеческой микробиоты.

Не стоит забывать, что не исключена возможность нецелевого ингибирования протеинкиназ человека в связи со структурным сходством участков связывания АТФ у человека и бактерий. Хотя идентичность каталитических доменов бактериальных и человеческих киназ обычно

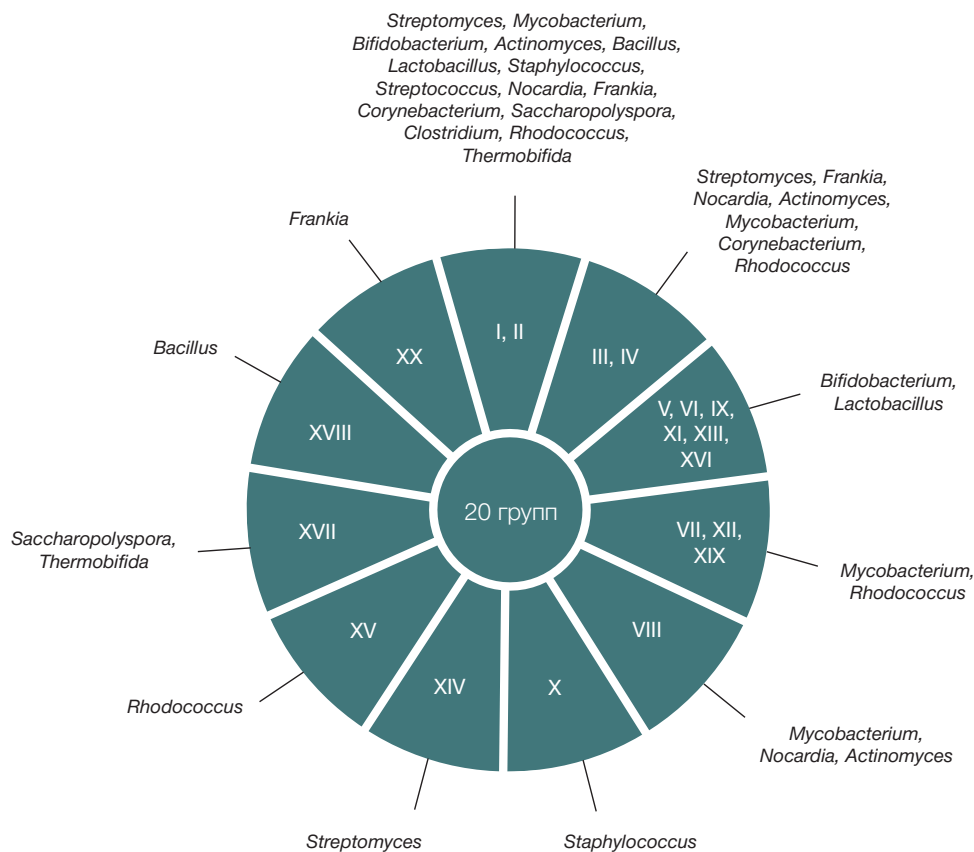


Рис. 2. Группы СТПК грамположительных бактерий (Zakharevich и соавт., [19])

составляет не более 30 %, следует обратить внимание на протеинкиназы человека при разработке селективных ингибиторов бактериальных СТПК. В человеческом киноме насчитывается порядка 518 протеинкиназ. При помощи множественного выравнивания нами было установлено, что 324 из них содержат «хэнковские домены», характерные для исследуемых нами СТПК эукариотического типа. Для распределения человеческих киназ по группам согласно разработанной классификации мы идентифицировали у отобранных 324 киназ 9 аминокислотных остатков, составляющих сигнатуру. По результатам проведенной работы оказалось, что человеческие киназы попадают только в 4 группы предложенной классификации: I, II, VIII и XII (рис. 3). Причем из всех рассмотренных человеческих протеинкиназ лишь 8,6 % попали в группы к бактериальным киназам. Стоит отметить, что ингибирование протеинкиназ человека, не попавших ни в одну из групп, ингибиторами, нацеленными на СТПК из рассматриваемых групп, кажется нам маловероятным в связи с различиями в их сайтах связывания.

Рассмотрим случай, при котором мы хотим получить селективные ингибиторы СТПК патогенных микроорга-

низмов. Такие ингибиторы должны быть избирательны не только по отношению к человеческим протеинкиназам, но и к СТПК микроорганизмов-симбионтов. Таким образом, необходимо разделить группы, содержащие СТПК патогенных микроорганизмов, СТПК симбионтов и протеинкиназы человека на три кластера и посмотреть, какие из групп характерны только для киназ патогенов. Для этого нами была построена диаграмма Венна (рис. 3).

На рис. 3 видно, что при разработке селективных ингибиторов СТПК патогенных микроорганизмов в первую очередь стоит обратить внимание на киназы из следующих четырех групп: VII, X, XVIII и XIX (таблица), — т. к. в них входят исключительно киназы патогенных микроорганизмов и вероятность взаимодействия ингибиторов, нацеленных на эти группы, с протеинкиназами человека или с СТПК бактерий-симбионтов будет минимальна.

В группы VII и XIX входят СТПК *M. tuberculosis*: PknK и PknI. PknK вовлечена в регуляцию трансляции на различных фазах роста, участвует в адаптивных механизмах и в патогенезе у микобактерий [50, 51]. Также экспериментально показано, что экспрессия *pknK* выше у вирулентного штамма *M. tuberculosis* H37Rv, чем у авирулентного

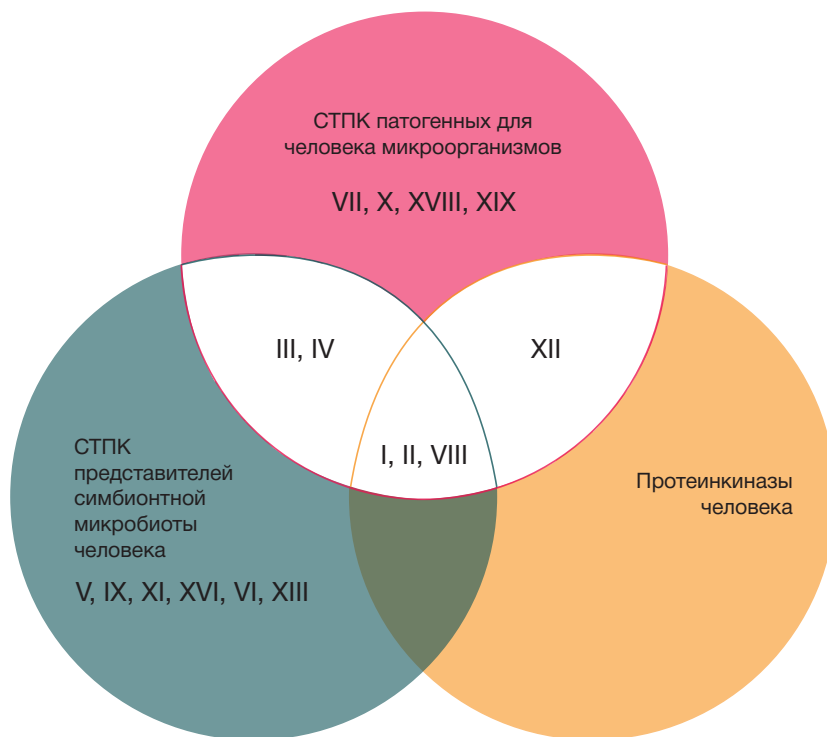


Рис. 3. Диаграмма Венна, демонстрирующая распределение групп серин-треониновых протеинкиназ (СТПК) по трем кластерам. Римскими цифрами обозначены группы согласно разработанной классификации (Zakharevich и соавт., [19]). Группы XIV, XV, XVII и XX отсутствуют на полученной диаграмме по двум причинам: во-первых, микроорганизмы, относящиеся к этим группам, не являются ни патогенами, ни представителями симбиотной микробиоты человека; во-вторых, не было обнаружено сходства между сигнатурами СТПК из четырех перечисленных групп и сигнатурами протеинкиназ человека

Характеристика СТПК из четырех групп (VII, X, XVIII, XIX), характерных для патогенных микроорганизмов

Группа	СТПК	Сигнатура	Род (вид)	Заболевания
VII, XIX	PknK, PknI	IV]VAVMYHLT, LSVVMYIVK	<i>Mycobacterium</i> (<i>M. tuberculosis</i> , <i>M. bovis</i> , <i>M. smegmatis</i> , <i>M. marinum</i> , <i>M. ulcerans</i>)	Туберкулез, язвы Бурули, аквариумная гранулёма, различные оппортунистические инфекции
X	Stk (PknB)	LVAVMYILF	<i>Staphylococcus</i> (<i>S. aureus</i> , <i>S. haemolyticus</i> , <i>S. epidermidis</i>)	Эндокардит, сепсис, перитонит, абсцессы, различные кожные инфекции
XVIII	YbdM	ITVPMYML[IV]	<i>Bacillus</i> (<i>B. weihenstephanensis</i> , <i>B. cytotoxicus</i>)	Пищевое отравление (диарея)

H37Ra [50]. PknI является близким гомологом киназы Stk1 *Streptococcus agalactiae*, участвующим в формировании вирулентности [52]. В связи с вышеизложенным можно предположить, что ингибирование данных киназ будет способствовать замедлению роста штаммов *M. tuberculosis* и снижению их патогенности и вирулентности.

В группу X входят СТПК рода *Staphylococcus*. СТПК стафилококков являются модуляторами структуры клеточной стенки, а также вовлечены в формирование вирулентности [53]. Таким образом, ингибирование киназ данной группы, так же, как и групп, описанных выше, будет способствовать уменьшению вирулентности штаммов *Staphylococcus*.

Группа XVIII представлена протеинкиназой рода *Bacillus* YbdM, которая фосфорилирует двухкомпонентную систему DegS/U. Эта система, в свою очередь, влияет на образование биопленок, формирование сложных колоний и подвижность микроорганизмов [54]. Следовательно, воздействие на эту группу СТПК селективными ингибиторами будет нарушать течение вышеописанных процессов.

Протеинкиназы человека, чьи сигнатуры совпали с сигнатурами бактериальных протеинкиназ, относятся к киназам из следующих классов: AGC¹, CAMK², CMGC³, STE⁴, — и к семействам протеинкиназ, не классифицированным на данный момент (например, семействам IKK и NEK). Роль этих протеинкиназ в организме человека различна. Например, киназы семейства ROCK участвуют в осуществлении ряда функций, в том числе Rho-индуцированного образования актиновых стрессорных волокон и очагов адгезии, а также в таких процессах, как активация тромбоцитов, сокращение гладкой мускулатуры различных органов, хемотаксис нейтрофилов и многих других [55]. PAK-киназы фосфорилируют и регулируют активность ряда цитоскелетных белков; также в ряде статей была описана их роль в регуляции активности MAPK в клетках млекопитающих [56, 57]. Для киназ семейства NDR описано участие в эмбриональном развитии, в нейробиологических процессах и биологии рака [58]. При этом нельзя однозначно сказать, что ингибирования указанных киназ человека следует избегать в любых случаях. Это не так, потому что, например, повышенная экспрессия ROCK-киназ ассоциирована с рядом заболеваний (раком мочевого пузыря, карциномой груди и др.), а с киназой PAK1 связаны такие заболевания суставов, как остеоартрит и ревматоидный артрит, т. к. активация ряда сигнальных путей, в которых данная киназа является одним из основных медиаторов, приводит к повышению экспрессии маркерных генов, имеющих отношение к остеоартриту [59].

Таким образом, регуляция таксономического состава человеческой микробиоты — это комплексная задача, требующая для своего решения привлечения специалистов из различных областей: для ее решения необходимо не

только хорошо понимать генетику микроорганизмов, но и разбираться в процессах, происходящих в клетках человека. Помимо этого, т. к. данная задача требует анализа большого массива данных и построения пространственных структур хотя бы для представителей основных групп киназ, необходимо участие биоинформатиков и химиков.

Выводы

В последнее время различные группы исследователей пришли к пониманию того, что микробиота человека чрезвычайно важна для его здоровья. Наиболее многочисленная и разнообразная по видовому составу популяция микроорганизмов сосредоточена в желудочно-кишечном тракте. Микроорганизмы, составляющие микробиоту ЖКТ, коэволюционируют с человеком. Нарушение таксономического баланса кишечной микробиоты может быть причиной различных патологий, в том числе язвенного колита, болезни Крона, диабета и др.

При разработке подходов по восстановлению таксономического состава микробиоты необходимо сочетать эффективность и селективность предлагаемых соединений для ингибирования роста микроорганизмов. Стоит подчеркнуть, что коррекция таксономического дисбаланса включает воздействие не только на патогенные микроорганизмы, но и на микроорганизмы-симбиоты. Следовательно, требуется «мягкий» инструмент воздействия на кишечную микробиоту, который будет замедлять рост нежелательных групп бактерий, снижать вирулентность патогенной составляющей микрофлоры при заболеваниях и минимально затрагивать протеинкиназы человека. Таким инструментом могут стать предлагаемые нами селективные ингибиторы бактериальных СТПК.

Сама идея использования направленных ингибиторов СТПК не нова [20, 60, 61]. Ранее, при сравнении киназ человека и различных паразитов (*Plasmodium*, *Trypanosoma*, *Leishmania*), нами было показано, что, несмотря на довольно консервативную структуру каталитического домена и, в частности, сайтов связывания, разработка селективно действующих препаратов возможна [62]. Разработанная классификация СТПК является первым важным шагом на пути к созданию эффективных селективных ингибиторов бактериальных протеинкиназ.

Можно предложить следующий алгоритм разработки селективных ингибиторов СТПК: (1) сравнительный анализ таксономического состава микробиоты здорового и больного человека и выделение тех групп бактерий (родов и/или видов), количество которых возросло при патологии; (2) анализ групп, содержащих СТПК данных микроорганизмов; (3) *in silico* поиск ингибиторов (низкомолекулярных соединений) для протеинкиназ выделенных групп (моделирование пространственных структур, молекулярный докинг); (4) экспериментальная проверка предложенных соединений. При этом на этапах (2) и (3) также нужно будет учитывать следующее: информацию о функциях СТПК микроорганизмов-мишеней; СТПК бактерий, входящих в отобранные группы, но не являющихся мишенями; наличие предварительной пространственной структуры или даже нескольких структур для типичных представителей протеинкиназ из каждой группы для более быстрого отбора ингибирующих соединений.

¹ AGC — класс протеинкиназ, активность которых регулируется циклическим АМФ/ГМФ. Также в этот класс входят так называемые протеинкиназы С, активность которых может регулироваться диацилглицеролом, фосфолипидами и ионами кальция.

² CAMK — Са-кальмодулин-зависимые протеинкиназы.

³ CMGC — класс протеинкиназ, в который входят циклинзависимые протеинкиназы (С), так называемые MAP-киназы (М) и ферменты, способные фосфорилировать гликогенсинтазу (G).

⁴ STE — серин/треониновые киназы, первоначально идентифицированные в дрожжах.

Литература

1. Янковский Д. С. Состав и функции микробиоценозов различных биотопов человека. *Здоровье женщины*. 2003; 4 (16): 145–58.
2. Oriach CS, Robertson RC, Stanton C, Cryan JF, Dinan TG. Food for thought: The role of nutrition in the microbiota-gut-brain axis. *Clin Nutr Exp*. 2016; (6): 25–38.
3. Yatsunenko T, Rey FE, Manary MJ, Trehan I, Dominguez-Bello MG, Contreras M, et al. Human gut microbiome viewed across age and geography. *Nature*. 2012 May 9; 486 (7402): 222–7.
4. Jandhyala SM, Talukdar R, Subramanyam C, Vuyyuru H, Sasikala M, Reddy DN. Role of the normal gut microbiota. *World J Gastroenterol*. 2015 Aug 7; 21 (29): 8787–803.
5. Аверина О. В., Даниленко В. Н. Микробиота кишечника человека: роль в становлении и функционировании нервной системы. *Микробиология*. 2017; 86 (1): 5–24.
6. Немаджата Р, Версалович Ж. Effects of probiotics on gut microbiota: mechanisms of intestinal immunomodulation and neuromodulation. *Therap Adv Gastroenterol*. 2013 Jan; 6 (1): 39–51.
7. Kamada N, Chen GY, Inohara N, Núñez G. Control of pathogens and pathobionts by the gut microbiota. *Nat Immunol*. 2013 Jul; 14 (7): 685–90.
8. DuPont AW, DuPont HL. The intestinal microbiota and chronic disorders of the gut. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2011 Aug 16; 8 (9): 523–31.
9. Sekirov I, Russell SL, Antunes LCM, Finlay BB. Gut microbiota in health and disease. *Physiol Rev*. 2010 Jul; 90 (3): 859–904.
10. Cryan JF, Dinan TG. Mind-altering microorganisms: the impact of the gut microbiota on brain and behaviour. *Nat Rev Neurosci*. 2012 Oct; 13 (10): 701–12.
11. Maslowski KM, Mackay CR. Diet, gut microbiota and immune responses. *Nat Immunol*. 2011 Jan; 12 (1): 5–9.
12. Salim SY, Kaplan GG, Madsen KL. Air pollution effects on the gut microbiota: A link between exposure and inflammatory disease. *Gut Microbes*. 2014 Mar–Apr; 5 (2): 215–9.
13. Bsted AC, Logan AC, Selhub EM. Intestinal microbiota, probiotics and mental health: from Metchnikoff to modern advances: part III — convergence toward clinical trials. *Gut Pathog*. 2013 Mar 16; 5 (1): 4.
14. Cryan JF, Dinan TG. Mind-altering microorganisms: the impact of the gut microbiota on brain and behaviour. *Nat Rev Neurosci*. 2012 Oct; 13 (10): 701–12.
15. Shetty SA, Hugenholtz F, Lahti L, Smidt H, de Vos WM. Intestinal microbiome landscaping: insight in community assemblage and implications for microbial modulation strategies. *FEMS Microbiol Rev*. 2017 Mar 1; 41 (2): 182–99.
16. Kang SS, Jeraldo PR, Kurti A, Miller MEB, Cook MD, Whitlock K, et al. Diet and exercise orthogonally alter the gut microbiome and reveal independent associations with anxiety and cognition. *Mol Neurodegener*. 2014 Sep 13; 9: 36.
17. Kobir A, Shi L, Boskovic A, Grangeasse C, Franjevic D, Mijakovic I. Protein phosphorylation in bacterial signal transduction. *Biochim Biophys Acta*. 2011 Oct; 1810 (10): 989–94.
18. Ge R, Shan W. Bacterial Phosphoproteomic Analysis Reveals the Correlation Between Protein Phosphorylation and Bacterial Pathogenicity. *Genomics Proteomics Bioinformatics*. 2011 Oct; 9 (4–5): 119–27.
19. Zakharevich NV, Osolodkin DI, Artamonova II, Palyulin VA, Zefirov NS, Danilenko VN. Signatures of the ATP-binding pocket as a basis for structural classification of the serine/threonine protein kinases of gram-positive bacteria. *Proteins*. 2012 May; 80 (5): 1363–76.
20. Danilenko VN, Osolodkin DI, Lakatosh SA, Preobrazhenskaya MN, Shtil AA. Bacterial eukaryotic type serine-threonine protein kinases: from structural biology to targeted anti-infective drug design. *Curr Top Med Chem*. 2011; 11 (11): 1352–69.
21. Av-Gay Y, Everett M. The eukaryotic-like Ser/Thr protein kinases of *Mycobacterium tuberculosis*. *Trends Microbiol*. 2000 May; 8 (5): 238–44.
22. Leonard CJ, Aravind L, Koonin EV. Novel families of putative protein kinases in bacteria and archaea: evolution of the “eukaryotic” protein kinase superfamily. *Genome Res*. 1998 Oct; 8 (10): 1038–47.
23. Shi L, Potts M, Kennelly PJ. The serine, threonine, and/or tyrosine-specific protein kinases and protein phosphatases of prokaryotic organisms: a family portrait. *FEMS Microbiol Rev*. 1998 Oct; 22 (4): 229–53.
24. Petřicková K, Petřicek M. Eukaryotic-type protein kinases in *Streptomyces coelicolor*: variations on a common theme. *Microbiology*. 2003 Jul; 149 (Pt 7): 1609–21.
25. Cozzone AJ. Role of protein phosphorylation on serine/threonine and tyrosine in the virulence of bacterial pathogens. *J Mol Microbiol Biotechnol*. 2005; 9 (3–4): 198–213.
26. Molle V, Kremer L. Division and cell envelope regulation by Ser/Thr phosphorylation: *Mycobacterium* shows the way. *Mol Microbiol*. 2010 Mar; 75 (5): 1064–77.
27. Ruggiero A, De Simone P, Smaldone G, Squeglia F, Berisio R. Bacterial cell division regulation by Ser/Thr kinases: a structural perspective. *Curr Protein Pept Sci*. 2012 Dec; 13 (8): 756–66.
28. Elizarov SM, Mironov VA, Danilenko VN. Calcium-induced alterations in the functioning of protein serine/threonine and tyrosine kinases in *Streptomyces fradiae* cells. *IUBMB Life*. 2000 Aug; 50 (2): 139–43.
29. Hussain H, Branny P, Allan E. A eukaryotic-type serine/threonine protein kinase is required for biofilm formation, genetic competence, and acid resistance in *Streptococcus mutans*. *J Bacteriol*. 2006 Feb; 188 (4): 1628–32.
30. Neu JM, MacMillan SV, Nodwell JR, Wright GD. StoPK-1, a serine/threonine protein kinase from the glycopeptide antibiotic producer *Streptomyces toyocaensis* NRRL 15009, affects oxidative stress response. *Mol Microbiol*. 2002 Apr; 44 (2): 417–30.
31. Madec E, Laszkiewicz A, Iwanicki A, Obuchowski M, Séror S. Characterization of a membrane-linked Ser/Thr protein kinase in *Bacillus subtilis*, implicated in developmental processes. *Mol Microbiol*. 2002 Oct; 46 (2): 571–86.
32. Rajagopal L, Vo A, Silvestroni A, Rubens CE. Regulation of cytotoxin expression by converging eukaryotic-type and two-component signaling mechanisms in *Streptococcus agalactiae*. *Mol Microbiol*. 2006 Nov; 62 (4): 941–57.
33. Wiley DJ, Nordfeldth R, Rosenzweig J, DaFonseca CJ, Gustin R, Wolf-Watz H, et al. The Ser/Thr kinase activity of the *Yersinia* protein kinase A (YpkA) is necessary for full virulence in the mouse, mollifying phagocytes, and disrupting the eukaryotic cytoskeleton. *Microb Pathog*. 2006 May; 40 (5): 234–43.
34. Berman HM, Westbrook J, Feng Z, Gilliland G, Bhat TN, Weissig H, et al. The Protein Data Bank. *Nucleic Acids Res*. 2000 Jan 1; 28 (1): 235–42.
35. Pereira SF, Goss L, Dworkin J. Eukaryote-like serine/threonine kinases and phosphatases in bacteria. *Microbiol Mol Biol Rev*. 2011 Mar; 75 (1): 192–212.
36. Hanks SK. Genomic analysis of the eukaryotic protein kinase superfamily: a perspective. *Genome Biol*. 2003; 4 (5): 111.
37. Eckburg PB, Bik EM, Bernstein CN, Purdom E, Dethlefsen L, Sargent M, et al. Diversity of the human intestinal microbial flora. *Science*. 2005 Jun 10; 308 (5728): 1635–8.
38. Palmer C, Bik EM, DiGiulio DB, Relman DA, Brown PO. Development of the Human Infant Intestinal Microbiota. *PLoS Biol*. 2007 Jul; 5 (7): e177.
39. Arumugam M, Raes J, Pelletier E, Le Paslier D, Yamada T, Mende DR, et al. Enterotypes of the human gut Microbiome. *Nature*. 2011 May 12; 473 (7346): 174–80.
40. Ley RE, Turnbaugh PJ, Klein S, Gordon JL. Microbial ecology: Human gut microbes associated with obesity. *Nature*. 2006 Dec 21; 444 (7122): 1022–3.
41. Zoetendal EG, Akkermans AD, De Vos WM. Temperature gradient gel electrophoresis analysis of 16S rRNA from human fecal samples reveals stable and host-specific communities of active bacteria. *Appl Environ Microbiol*. 1998 Oct; 64 (10): 3854–9.
42. Morgan XC, Tickle TL, Sokol H, Gevers D, Devaney KL,

- Ward DV, et al. Dysfunction of the intestinal microbiome in inflammatory bowel disease and treatment. *Genome Biol.* 2012 Apr 16; 13 (9): R79.
43. Human Microbiome Project Consortium. Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. *Nature.* 2012 Jun 13; 486 (7402): 207–14.
 44. Joossens M, Huys G, Cnockaert M, De Preter V, Verbeke K, Rutgeerts P, et al. Dysbiosis of the faecal microbiota in patients with Crohn's disease and their unaffected relatives. *Gut.* 2011 May; 60 (5): 631–7.
 45. Statnikov A, Alekseyenko AV, Li Z, Henaff M, Perez-Perez GI, Blaser MJ, et al. Microbiomic Signatures of Psoriasis: Feasibility and Methodology Comparison. *Sci Rep.* 2013; 3: 2620.
 46. Larsen N, Vogensen FK, van den Berg FWJ, Nielsen DS, Andreasen AS, Pedersen BK, et al. Gut Microbiota in Human Adults with Type 2 Diabetes Differs from Non-Diabetic Adults. *PLoS ONE.* 2010 Feb 5; 5 (2): e9085.
 47. Zeuthen LH, Christensen HR, Frøkiaer H. Lactic acid bacteria inducing a weak interleukin-12 and tumor necrosis factor alpha response in human dendritic cells inhibit strongly stimulating lactic acid bacteria but act synergistically with gram-negative bacteria. *Clin Vaccine Immunol.* 2006 Mar; 13 (3): 365–75.
 48. Tana C, Umesaki Y, Imaoka A, Handa T, Kanazawa M, Fukudo S. Altered profiles of intestinal microbiota and organic acids may be the origin of symptoms in irritable bowel syndrome. *Neurogastroenterol Motil.* 2010 May; 22 (5): 512–9, e114–5.
 49. Manichanh C, Borruel N, Casellas F, Guarner F. The gut microbiota in IBD. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2012 Oct; 9 (10): 599–608.
 50. Malhotra V, Arteaga-Cortés LT, Clay G, Clark-Curtiss JE. Mycobacterium tuberculosis protein kinase K confers survival advantage during early infection in mice and regulates growth in culture and during persistent infection: implications for immune modulation. *Microbiology.* 2010 Sep; 156 (Pt 9): 2829–41.
 51. Malhotra V, Okon BP, Clark-Curtiss JE. Mycobacterium tuberculosis Protein Kinase K Enables Growth Adaptation through Translation Control. *J Bacteriol.* 2012 Aug; 194 (16): 4184–96.
 52. Gopalaswamy R, Narayanan S, Chen B, Jacobs WR, Av-Gay Y. The serine/threonine protein kinase PknI controls the growth of Mycobacterium tuberculosis upon infection. *FEMS Microbiol Lett.* 2009 Jun; 295 (1): 23–9.
 53. Ohlsen K, Donat S. The impact of serine/threonine phosphorylation in Staphylococcus aureus. *Int J Med Microbiol.* 2010 Feb; 300 (2–3): 137–41.
 54. Jers C, Kobir A, Søndergaard EO, Jensen PR, Mijakovic I. Bacillus subtilis Two-Component System Sensory Kinase DegS Is Regulated by Serine Phosphorylation in Its Input Domain. *PLoS ONE.* 2011 Feb 3; 6 (2): e14653.
 55. Форстер К. Дж. (US), Эрност М. Дж. (US), Ван Ц. (US), Дэвис Р. Дж. (US), авторы; Вертекс Фармасьютикалз Инкорпорейтед (US), патентообладатель. Триазолы, используемые в качестве ингибиторов протеинкиназ. Патент РФ RU 2393155. 27 июня 2010 г.
 56. Потехина Е. С., Надеждина Е. С. Митоген-активируемые протеинкиназные каскады и участие в них Ste20-подобных протеинкиназ. *Успехи биол. хим.* 2002; 42: 235–56.
 57. Dan C, Nath N, Liberto M, Minden A. PAK5, a New Brain-Specific Kinase, Promotes Neurite Outgrowth in N1E-115 Cells. *Mol Cell Biol.* 2002 Jan; 22 (2): 567–77.
 58. Hergovich A, Stegert MR, Schmitz D, Hemmings BA. NDR kinases regulate essential cell processes from yeast to humans. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2006 Apr; 7 (4): 253–64.
 59. Клатт А. Р. (DE), Бартник Э. (DE), Чех Й. (DE), Леберер Э. (DE), Леойв Т. (DE), Баррадо С. (DE), авторы; Санофи-Авентис Дойчланд Гмбх (DE), патентообладатель. Применение ингибитора рак для лечения заболевания суставов. Патент РФ RU 2360696. 10 июля 2009 г.
 60. Wehenkel A, Bellinzoni M, Graña M, Duran R, Villarino A, Fernandez P, et al. Mycobacterial Ser/Thr protein kinases and phosphatases: physiological roles and therapeutic potential. *Biochim Biophys Acta.* 2008 Jan; 1784 (1): 193–202.
 61. Cohen P. Protein kinases — the major drug targets of the twenty-first century? *Nat Rev Drug Discov.* 2002 Apr; 1 (4): 309–15.
 62. Osolodkin DI, Zakharevich NV, Palyulin VA, Danilenko VN, Zefirov NS. Bioinformatic analysis of glycogen synthase kinase 3: human versus parasite kinases. *Parasitology.* 2011 May; 138 (6): 725–35.

References

1. Yankovsky DS. [Composition and Functions of Microbiocenoses in Varied Human Biotopes]. *Zdorov'e zhenshchiny.* 2003; 4 (16): 145–58. Russian.
2. Oriach CS, Robertson RC, Stanton C, Cryan JF, Dinan TG. Food for thought: The role of nutrition in the microbiota-gut-brain axis. *Clin Nutr Exp.* 2016; (6): 25–38.
3. Yatsunenko T, Rey FE, Manary MJ, Trehan I, Dominguez-Bello MG, Contreras M, et al. Human gut microbiome viewed across age and geography. *Nature.* 2012 May 9; 486 (7402): 222–7.
4. Jandhyala SM, Talukdar R, Subramanyam C, Vuyyuru H, Sasikala M, Reddy DN. Role of the normal gut microbiota. *World J Gastroenterol.* 2015 Aug 7; 21 (29): 8787–803.
5. Averina OV, Danilenko VN. Human Intestinal Microbiota: Role in Development and Functioning of the Nervous System. *Microbiology.* 2017 Jan; 86 (1): 1–18.
6. Hemarajata P, Versalovic J. Effects of probiotics on gut microbiota: mechanisms of intestinal immunomodulation and neuromodulation. *Therap Adv Gastroenterol.* 2013 Jan; 6 (1): 39–51.
7. Kamada N, Chen GY, Inohara N, Núñez G. Control of pathogens and pathobionts by the gut microbiota. *Nat Immunol.* 2013 Jul; 14 (7): 685–90.
8. DuPont AW, DuPont HL. The intestinal microbiota and chronic disorders of the gut. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2011 Aug 16; 8 (9): 523–31.
9. Sekirov I, Russell SL, Antunes LCM, Finlay BB. Gut microbiota in health and disease. *Physiol Rev.* 2010 Jul; 90 (3): 859–904.
10. Cryan JF, Dinan TG. Mind-altering microorganisms: the impact of the gut microbiota on brain and behaviour. *Nat Rev Neurosci.* 2012 Oct; 13 (10): 701–12.
11. Maslowski KM, Mackay CR. Diet, gut microbiota and immune responses. *Nat Immunol.* 2011 Jan; 12 (1): 5–9.
12. Salim SY, Kaplan GG, Madsen KL. Air pollution effects on the gut microbiota: A link between exposure and inflammatory disease. *Gut Microbes.* 2014 Mar–Apr; 5 (2): 215–9.
13. Bested AC, Logan AC, Selhub EM. Intestinal microbiota, probiotics and mental health: from Metchnikoff to modern advances: part III — convergence toward clinical trials. *Gut Pathog.* 2013 Mar 16; 5 (1): 4.
14. Cryan JF, Dinan TG. Mind-altering microorganisms: the impact of the gut microbiota on brain and behaviour. *Nat Rev Neurosci.* 2012 Oct; 13 (10): 701–12.
15. Shetty SA, Hugenholtz F, Lahti L, Smidt H, de Vos WM. Intestinal microbiome landscaping: insight in community assemblage and implications for microbial modulation strategies. *FEMS Microbiol Rev.* 2017 Mar 1; 41 (2): 182–99.
16. Kang SS, Jeraldo PR, Kurti A, Miller MEB, Cook MD, Whitlock K, et al. Diet and exercise orthogonally alter the gut microbiome and reveal independent associations with anxiety and cognition. *Mol Neurodegener.* 2014 Sep 13; 9: 36.
17. Kobir A, Shi L, Boskovic A, Grangeasse C, Franjevic D, Mijakovic I. Protein phosphorylation in bacterial signal transduction. *Biochim Biophys Acta.* 2011 Oct; 1810 (10): 989–94.
18. Ge R, Shan W. Bacterial Phosphoproteomic Analysis Reveals the Correlation Between Protein Phosphorylation and Bacterial Pathogenicity. *Genomics Proteomics Bioinformatics.* 2011 Oct; 9

- (4–5): 119–27.
19. Zakharevich NV, Osolodkin DI, Artamonova II, Palyulin VA, Zefirov NS, Danilenko VN. Signatures of the ATP-binding pocket as a basis for structural classification of the serine/threonine protein kinases of gram-positive bacteria. *Proteins*. 2012 May; 80 (5): 1363–76.
 20. Danilenko VN, Osolodkin DI, Lakatosh SA, Preobrazhenskaya MN, Shtil AA. Bacterial eukaryotic type serine-threonine protein kinases: from structural biology to targeted anti-infective drug design. *Curr Top Med Chem*. 2011; 11 (11): 1352–69.
 21. Av-Gay Y, Everett M. The eukaryotic-like Ser/Thr protein kinases of *Mycobacterium tuberculosis*. *Trends Microbiol*. 2000 May; 8 (5): 238–44.
 22. Leonard CJ, Aravind L, Koonin EV. Novel families of putative protein kinases in bacteria and archaea: evolution of the “eukaryotic” protein kinase superfamily. *Genome Res*. 1998 Oct; 8 (10): 1038–47.
 23. Shi L, Potts M, Kennelly PJ. The serine, threonine, and/or tyrosine-specific protein kinases and protein phosphatases of prokaryotic organisms: a family portrait. *FEMS Microbiol Rev*. 1998 Oct; 22 (4): 229–53.
 24. Petříčková K, Petríček M. Eukaryotic-type protein kinases in *Streptomyces coelicolor*: variations on a common theme. *Microbiology*. 2003 Jul; 149 (Pt 7): 1609–21.
 25. Cozzzone AJ. Role of protein phosphorylation on serine/threonine and tyrosine in the virulence of bacterial pathogens. *J Mol Microbiol Biotechnol*. 2005; 9 (3–4): 198–213.
 26. Molle V, Kremer L. Division and cell envelope regulation by Ser/Thr phosphorylation: *Mycobacterium* shows the way. *Mol Microbiol*. 2010 Mar; 75 (5): 1064–77.
 27. Ruggiero A, De Simone P, Smaldone G, Squeglia F, Berisio R. Bacterial cell division regulation by Ser/Thr kinases: a structural perspective. *Curr Protein Pept Sci*. 2012 Dec; 13 (8): 756–66.
 28. Elizarov SM, Mironov VA, Danilenko VN. Calcium-induced alterations in the functioning of protein serine/threonine and tyrosine kinases in *Streptomyces fradiae* cells. *IUBMB Life*. 2000 Aug; 50 (2): 139–43.
 29. Hussain H, Branny P, Allan E. A eukaryotic-type serine/threonine protein kinase is required for biofilm formation, genetic competence, and acid resistance in *Streptococcus mutans*. *J Bacteriol*. 2006 Feb; 188 (4): 1628–32.
 30. Neu JM, MacMillan SV, Nodwell JR, Wright GD. StoPK-1, a serine/threonine protein kinase from the glycopeptide antibiotic producer *Streptomyces toyocaensis* NRRL 15009, affects oxidative stress response. *Mol Microbiol*. 2002 Apr; 44 (2): 417–30.
 31. Madec E, Laszkiewicz A, Iwanicki A, Obuchowski M, Séror S. Characterization of a membrane-linked Ser/Thr protein kinase in *Bacillus subtilis*, implicated in developmental processes. *Mol Microbiol*. 2002 Oct; 46 (2): 571–86.
 32. Rajagopal L, Vo A, Silvestroni A, Rubens CE. Regulation of cytotoxin expression by converging eukaryotic-type and two-component signaling mechanisms in *Streptococcus agalactiae*. *Mol Microbiol*. 2006 Nov; 62 (4): 941–57.
 33. Wiley DJ, Nordfeldth R, Rosenzweig J, DaFonseca CJ, Gustin R, Wolf-Watz H, et al. The Ser/Thr kinase activity of the *Yersinia* protein kinase A (YpkA) is necessary for full virulence in the mouse, mollifying phagocytes, and disrupting the eukaryotic cytoskeleton. *Microb Pathog*. 2006 May; 40 (5): 234–43.
 34. Berman HM, Westbrook J, Feng Z, Gilliland G, Bhat TN, Weissig H, et al. The Protein Data Bank. *Nucleic Acids Res*. 2000 Jan 1; 28 (1): 235–42.
 35. Pereira SF, Goss L, Dworkin J. Eukaryote-like serine/threonine kinases and phosphatases in bacteria. *Microbiol Mol Biol Rev*. 2011 Mar; 75 (1): 192–212.
 36. Hanks SK. Genomic analysis of the eukaryotic protein kinase superfamily: a perspective. *Genome Biol*. 2003; 4 (5): 111.
 37. Eckburg PB, Bik EM, Bernstein CN, Purdom E, Dethlefsen L, Sargent M, et al. Diversity of the human intestinal microbial flora. *Science*. 2005 Jun 10; 308 (5728): 1635–8.
 38. Palmer C, Bik EM, DiGiulio DB, Relman DA, Brown PO. Development of the Human Infant Intestinal Microbiota. *PLoS Biol*. 2007 Jul; 5 (7): e177.
 39. Arumugam M, Raes J, Pelletier E, Le Paslier D, Yamada T, Mende DR, et al. Enterotypes of the human gut Microbiome. *Nature*. 2011 May 12; 473 (7346): 174–80.
 40. Ley RE, Turnbaugh PJ, Klein S, Gordon JL. Microbial ecology: Human gut microbes associated with obesity. *Nature*. 2006 Dec 21; 444 (7122): 1022–3.
 41. Zoetendal EG, Akkermans AD, De Vos WM. Temperature gradient gel electrophoresis analysis of 16S rRNA from human fecal samples reveals stable and host-specific communities of active bacteria. *Appl Environ Microbiol*. 1998 Oct; 64 (10): 3854–9.
 42. Morgan XC, Tickle TL, Sokol H, Gevers D, Devaney KL, Ward DV, et al. Dysfunction of the intestinal microbiome in inflammatory bowel disease and treatment. *Genome Biol*. 2012 Apr 16; 13 (9): R79.
 43. Human Microbiome Project Consortium. Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. *Nature*. 2012 Jun 13; 486 (7402): 207–14.
 44. Joossens M, Huys G, Cnockaert M, De Preter V, Verbeke K, Rutgeerts P, et al. Dysbiosis of the faecal microbiota in patients with Crohn's disease and their unaffected relatives. *Gut*. 2011 May; 60 (5): 631–7.
 45. Statnikov A, Alekseyenko AV, Li Z, Henaff M, Perez-Perez GI, Blaser MJ, et al. Microbiomic Signatures of Psoriasis: Feasibility and Methodology Comparison. *Sci Rep*. 2013; 3: 2620.
 46. Larsen N, Vogensen FK, van den Berg FWJ, Nielsen DS, Andreassen AS, Pedersen BK, et al. Gut Microbiota in Human Adults with Type 2 Diabetes Differs from Non-Diabetic Adults. *PLoS ONE*. 2010 Feb 5; 5 (2): e9085.
 47. Zeuthen LH, Christensen HR, Frøkiaer H. Lactic acid bacteria inducing a weak interleukin-12 and tumor necrosis factor alpha response in human dendritic cells inhibit strongly stimulating lactic acid bacteria but act synergistically with gram-negative bacteria. *Clin Vaccine Immunol*. 2006 Mar; 13 (3): 365–75.
 48. Tana C, Umesaki Y, Imaoka A, Handa T, Kanazawa M, Fukudo S. Altered profiles of intestinal microbiota and organic acids may be the origin of symptoms in irritable bowel syndrome. *Neurogastroenterol Motil*. 2010 May; 22 (5): 512–9, e114–5.
 49. Manichanh C, Borrueal N, Casellas F, Guarner F. The gut microbiota in IBD. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2012 Oct; 9 (10): 599–608.
 50. Malhotra V, Arteaga-Cortés LT, Clay G, Clark-Curtiss JE. *Mycobacterium tuberculosis* protein kinase K confers survival advantage during early infection in mice and regulates growth in culture and during persistent infection: implications for immune modulation. *Microbiology*. 2010 Sep; 156 (Pt 9): 2829–41.
 51. Malhotra V, Okon BP, Clark-Curtiss JE. *Mycobacterium tuberculosis* Protein Kinase K Enables Growth Adaptation through Translation Control. *J Bacteriol*. 2012 Aug; 194 (16): 4184–96.
 52. Gopalswamy R, Narayanan S, Chen B, Jacobs WR, Av-Gay Y. The serine/threonine protein kinase PknI controls the growth of *Mycobacterium tuberculosis* upon infection. *FEMS Microbiol Lett*. 2009 Jun; 295 (1): 23–9.
 53. Ohlsen K, Donat S. The impact of serine/threonine phosphorylation in *Staphylococcus aureus*. *Int J Med Microbiol*. 2010 Feb; 300 (2–3): 137–41.
 54. Jers C, Kobir A, Søndergaard EO, Jensen PR, Mijakovic I. *Bacillus subtilis* Two-Component System Sensory Kinase DegS Is Regulated by Serine Phosphorylation in Its Input Domain. *PLoS ONE*. 2011 Feb 3; 6 (2): e14653.
 55. Forster KDzh (US), Ernost MDzh (US), Van Ts (US), Devis RDzh (US), inventors; Vertex Pharmaceuticals Inc. (US), assignee. Triazoles used as protein kinase inhibitors. Russian Federation patent RU 2393155. 2010 Jun 27.
 56. Potekhina ES, Nadezhdina ES. Mitogen-aktiviruemye proteinkinaznye kaskady i uchastie v nikh Ste20-podobnykh proteinkinaz. *Uspekhi biologicheskoi khimii*. 2002; 42: 235–56. Russian.
 57. Dan C, Nath N, Liberto M, Minden A. PAK5, a New Brain-Specific Kinase, Promotes Neurite Outgrowth in N1E-115 Cells. *Mol Cell Biol*. 2002 Jan; 22 (2): 567–77.
 58. Hergovich A, Stegert MR, Schmitz D, Hemmings BA. NDR kinases regulate essential cell processes from yeast to humans.

- Nat Rev Mol Cell Biol. 2006 Apr; 7 (4): 253–64.
59. Klatt AR (DE), Bartnik E (DE), Chekh I (DE), Leberer E (DE), Leoiv T (DE), Barrado S (DE), inventors; Sanofi-Aventis Deutschland GmbH (DE), assignee. Application of pak inhibitor for arthropathy treatment. Russian Federation patent RU 2360696. 2009 Jul 10.
 60. Wehenkel A, Bellinzoni M, Graña M, Duran R, Villarino A, Fernandez P, et al. Mycobacterial Ser/Thr protein kinases and phosphatases: physiological roles and therapeutic potential. *Biochim Biophys Acta*. 2008 Jan; 1784 (1): 193–202.
 61. Cohen P. Protein kinases — the major drug targets of the twenty-first century? *Nat Rev Drug Discov*. 2002 Apr; 1 (4): 309–15.
 62. Osolodkin DI, Zakharevich NV, Palyulin VA, Danilenko VN, Zefirov NS. Bioinformatic analysis of glycogen synthase kinase 3: human versus parasite kinases. *Parasitology*. 2011 May; 138 (6): 725–35.