

## МЕХАНИЗМЫ МНОЖЕСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ БАКТЕРИЙ К АНТИБИОТИКАМ

© О.М. Землянко<sup>1,2</sup>, Т.М. Рогоза<sup>1,3</sup>, Г.А. Журавлева<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург;

<sup>2</sup> Санкт-Петербургский научный центр Российской академии наук, Санкт-Петербург;

<sup>3</sup> Санкт-Петербургский филиал Института общей генетики им. Н.И. Вавилова, Санкт-Петербург

Для цитирования: Землянко О.М., Рогоза Т.М., Журавлева Г.А. Механизмы множественной устойчивости бактерий к антибиотикам // Экологическая генетика. — 2018. — Т. 16. — № 3. — С. 4–17. doi: 10.17816/ecogen1634-17.

Поступила в редакцию: 13.07.2018

Принята к печати: 20.09.2018

✿ Появление множественной лекарственной устойчивости (МЛУ) ко все более широкому спектру антибиотиков у все большего числа патогенных бактерий представляет на сегодняшний день серьезную угрозу здоровью человечества. Отчасти это связано с бесконтрольным использованием антибиотиков не только в клинической практике, но и в различных отраслях сельского хозяйства. МЛУ обусловлена двумя механизмами: 1) накоплением генов устойчивости в результате интенсивного отбора при действии антибиотиков и 2) активным горизонтальным переносом генов устойчивости. Для понимания причин возникновения полирезистентности бактериальных штаммов к антибиотикам необходимо знание механизмов действия антибиотиков, механизмов возникновения устойчивости к отдельным антибиотикам и механизмов накопления и передачи генов устойчивости между бактериями — всем этим проблемам и посвящен данный обзор.

✿ **Ключевые слова:** антибиотики; резистентность; множественная лекарственная устойчивость; горизонтальный перенос генов.

## MECHANISMS OF BACTERIAL MULTIRESTANCE TO ANTIBIOTICS

© O.M. Zemlyanko<sup>1,2</sup>, T.M. Rogoza<sup>1,3</sup>, G.A. Zhouravleva<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Saint Petersburg State University, Saint Petersburg, Russia;

<sup>2</sup> Saint Petersburg Scientific Center RAS, Saint Petersburg, Russia;

<sup>3</sup> St. Petersburg branch of Vavilov Institute of General Genetics, Russian Academy of Sciences, Saint Petersburg, Russia

For citation: Zemlyanko OM, Rogoza TM, Zhouravleva GA. Mechanisms of bacterial multiresistance to antibiotics. *Ecological genetics*. 2018;16(3):4-17. doi: 10.17816/ecogen1634-17.

Received: 13.07.2018

Accepted: 20.09.2018

✿ Multiple drug resistance (MDR) to widening range of antibiotics emerging in increasing variety of pathogenic bacteria is a serious threat to the health of mankind nowadays. This is partially due to an uncontrolled usage of antibiotics not only in clinical practice, but also in various branches of agriculture. MDR is affected by two mechanisms: (1) accumulation of resistance genes as a result of intensive selection caused by antibiotics, and (2) active horizontal transfer of resistance genes. To unveil the reasons of bacterial multiresistance to antibiotics, it is necessary to understand the mechanisms of antibiotics action as well as the ways how either resistance to certain antibiotics emerge or resistance genes accumulate and transfer among bacterial strains. Current review is devoted to all these problems.

✿ **Keywords:** antibiotics; resistance; multiply drug resistance; horizontal transfer of genes.

### ВВЕДЕНИЕ

Бактерии существуют на Земле более 3,5 млрд лет, и за это время они освоили все возможные ниши обитания. У прокариот геном устроен относительно просто: представлен бактериальной хромосомой и плазмидами, внехромосомными элементами, способными к автономной репликации. Размер геномов различных бактерий варьирует в широких пределах — от 0,58 млн п. н. у *Mycoplasma genitalium* до 9,11 млн п. н. у *Bradyrhizobium japonicum*. Как правило, бактерии с наименьшими геномами — это паразиты или сим-

бионты, а организмы с крупными геномами обитают в сложных по структуре экосистемах с широким диапазоном условий [1]. Однако такой «простой» геном прокариот является эффективной пластичной системой. Он позволяет приспосабливаться к практически любым условиям существования благодаря механизмам горизонтального переноса генов и многообразию мобильных элементов, осуществляющих этот перенос.

Многие из антибиотиков представляют собой молекулы, полученные естественным путем. Именно природные химические вещества, оказывающие антибак-

териальное действие, и были названы антибиотиками, позднее к ним стали относить и полусинтетические, и синтетические противомикробные препараты. В природе микроорганизмы производят различные антибиотики, как своего рода способ борьбы одних видов с другими за освоение ниш обитания и пищевых ресурсов. Не удивительно, что продуценты антибиотиков имеют природную устойчивость к веществам, которые производят. Более того, наличие различных антимикробных средств в окружающей среде является фактором долгосрочного отбора, обеспечивающего появление и передачу генов устойчивости в организмы, неспособные производить такие вещества [2].

Попытки использовать природные вещества в борьбе с микробными инфекциями предпринимались человечеством и до открытия пенициллина А. Флемингом (Alexander Fleming) в 1929 г. Еще Л. Пастер (Louis Pasteur) в 1877 г. описал антагонистические отношения между бактериями почвы и возбудителями сибирской язвы. И.И. Мечников использовал борьбу между энтеробактериями для лечения кишечных заболеваний. В конце XIX в. П. Вайлемин (Jean Paul Vuillemin) предложил термин «антибиозис» — подавление одних микробов другими. Исследования в этой области в начале XX в. послужили толчком для поиска природных антимикробных веществ и дали начало «эре антибиотиков». В 1934 г. Домагк (Gerhard Johannes Paul Domagk) показал противомикробные свойства протозола, в 1939 г. Р. Дюбо (René Jules Dubos) получил тиротрицин, состоящий из грамицидина и тироцидина, Н.А. Красильников и А.И. Кореньяко выделили мицетин, в 1940 г. З. Ваксман (Selman Abraham Waksman) — актиномицин, в 1943 г. его ученик А. Шац (Albert Israel Schatz) получил стрептомицин. Впоследствии было разработано огромное количество препаратов для борьбы с бактериальными (и не только) инфекциями. Бесконтрольное и необоснованное использование антибиотиков не только в клинической практике, но и в животноводстве и птицеводстве в качестве факторов роста привело к лавинообразному нарастанию количества штаммов бактерий, устойчивых к различным препаратам. За несколько последних десятилетий описано большое количество случаев приобретения устойчивости ранее чувствительными штаммами бактерий. Так, устойчивость *Staphylococcus aureus* к метициллину была выявлена вскоре после введения этого антибиотика в клиническую практику. К концу 1990-х гг. распространенность MRSA (methicillin-resistant *S. aureus*) достигла 30 % среди клинических изолятов по всему миру, тогда же были описаны внеклинические штаммы MRSA [3]. Полирезистентные штаммы *Klebsiella pneumoniae* и *Escherichia coli*, продуцирующие бета-лактамазы расширенного спектра действия (Extended Spectrum Beta-Lactamases, или ESBL), были выявлены от Австралии и Южной Азии

до Европы и Северной Америки [3]. В связи с этим вызывает тревогу скорость возникновения устойчивости к новым антибиотикам. Множественная лекарственная устойчивость (МЛУ) большого числа патогенных для человека бактерий представляет серьезную опасность общественному здоровью в современном мире [4].

В данной статье рассматриваются биохимические механизмы действия антимикробных агентов, способы защиты бактерий от антибиотиков, а также механизмы горизонтального переноса, дающие возможность осуществлять накопление и передачу генов устойчивости. Обобщенные данные позволяют выявить причины, приводящие к возникновению множественной лекарственной устойчивости у различных бактерий.

### МЕХАНИЗМЫ ДЕЙСТВИЯ АНТИБИОТИКОВ

Антибиотики — это класс молекул, имеющих противомикробное действие. Первоначально к антибиотикам относили именно природные вещества с антимикробным действием. На сегодняшний день существуют разнообразные способы классификации антибиотиков, в том числе по происхождению, по классам химических веществ, по продуцентам, по мишени действия и т. д. Действие антибиотиков может быть бактериостатическим и бактерицидным. По механизмам действия антибиотики можно разделить на следующие четыре группы: 1) подавляющие синтез клеточной стенки; 2) нарушающие функции цитоплазматической мембраны; 3) ингибирующие синтез белка на рибосомах; 4) ингибирующие синтез нуклеиновых кислот (рис. 1). Внутри каждого класса антибиотиков к настоящему времени уже существует несколько поколений препаратов: каждое следующее отличается от предыдущего стабильностью, субстратным спектром, присутствием ингибиторов, но принципиальный механизм действия схож у антибиотиков разных поколений, входящих в одну и ту же группу.

**1. Антибиотики, подавляющие синтез клеточной стенки.** Клеточная стенка у бактерий имеет жесткую структуру, в ее основе находится пептидогликан, состоящий из полисахаридов и полипептидов. Пептидогликан образует сетчатую структуру с поперечными сшивками, которая придает клеточной стенке прочность. В состав полисахаридов клеточной стенки входят аминокислоты N-ацетилглюкозамин и N-ацетилмурамовая кислота, имеющаяся только у бактерий. Рост этих макромолекул происходит за счет присоединения D-аланиновых димеров на свободные концы пептидогликана [5]. Все антибиотики, подавляющие синтез клеточной стенки, имеют ряд общих свойств: они обладают бактерицидным эффектом, не действуют на покоящиеся клетки, на бактерии, утратившие клеточную стенку, такие как микоплазмы. Эти антибиотики могут нарушать синтез основных компонентов клеточной стенки (D-аланиновые димеры и N-ацетилмурамовая кислота), блокировать рабо-

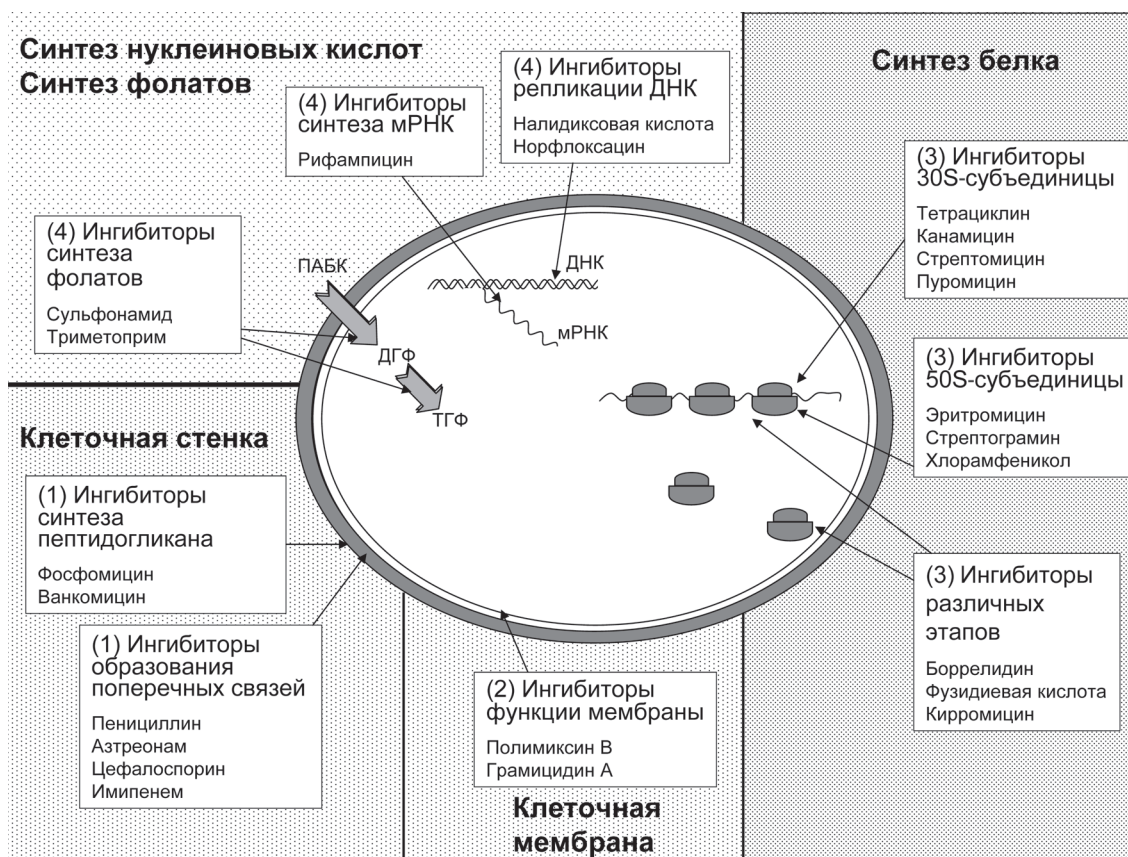


Рис. 1. Примеры мишеней действия некоторых антибиотиков. Антибиотики сгруппированы по принципу действия; цифрами обозначены группы механизмов действия антибиотиков; стрелки указывают мишени действия антибиотиков. ПАБК — пара-аминобензойная кислота; ДГФ — дигидрофолат; ТГФ — тетрагидрофолат

Fig. 1. The examples of targets of some antibiotics. Antibiotics are grouped according to the principle of action; numbers indicate the mechanisms of action of antibiotics; arrows indicate the targets of the action of antibiotics. PABA — para-aminobenzoic acid; DHF — dihydrofolate; THF — tetrahydrofolate

ту ферментов, вовлеченных в образование клеточной стенки, и препятствовать образованию сшивок пептидогликана.

**2. Антибиотики, действующие на функции цитоплазматической мембраны,** нарушают ее проницаемость и способствуют выделению многих компонентов цитоплазмы в окружающую среду, что и вызывает последующий лизис бактериальной клетки. Для всех антибиотиков этой группы характерна низкая избирательность и, соответственно, высокая токсичность, что обусловлено значительным химическим и структурным сходством клеточных мембран различных организмов. Антибиотики, действие которых направлено на клеточную мембрану, можно разделить на два типа: 1) вещества, способные встраиваться между липидами и белками мембранных структур, необратимо изменяя их; 2) вещества, играющие роль переносчиков специфических ионов, поэтому их называют ионофорами. Они различаются по ионспецифичности и могут быть подвижными или формировать каналы через мембраны, меняя осмотическое давление внутри клетки [6].

**3. Ингибирование синтеза белка** в результате действия антибиотиков может быть обусловлено различными механизмами и происходить на разных этапах этого процесса. Стоит отметить, что такое подавление может быть временным, и тогда действие антибиотиков будет бактериостатическим. Но если связывание антибиотика с отдельными компонентами аппарата белкового синтеза необратимо, то это приводит к бактерицидному действию антибиотика. На фоне остановки синтеза белка при действии антибиотиков как побочный эффект могут наблюдаться блок инициации репликации ДНК, блок синтеза РНК, нарушение формирования клеточной стенки.

**4. Антибиотики, ингибирующие синтез нуклеиновых кислот (РНК и ДНК).** Ингибиторы матричных функций связываются с ДНК самых разных клеток, их действие неспецифично, они подавляют рост любых клеток, в которые могут проникнуть. Ингибиторы ферментов обладают избирательным действием. Они подавляют рост только прокариотических или только эукариотических клеток. Ингибиторы синтеза предшественников нуклеиновых кислот — антиметаболи-

Таблица 1

## Механизмы действия различных классов антибиотиков

Table 1

## Mechanisms of action of different antibiotics

Мишень	Класс	Примеры антибиотиков	Действие
Клеточная стенка	Гликопептиды	Циклосерин	Блок образования D-аланиновых димеров [7]
		Ванкомицин	Блок связывания D-аланиновых димеров [8]
	Фосфомицины	Фосфомицин	Блок синтеза N-ацетилмурамовой кислоты [9]
Цитоплазматическая мембрана	Пенициллины Бета-лактамы	Пенициллин Имипенем Азтреонам	Связывание транспептидазы, блок образования шпиков пептидогликана [10]
	Полимиксины	Полимиксин В Полимиксин М	Встраивание в липидный бислой, вытеснение $K^+$ и $Mg^{2+}$ [11]
Синтез белка	Ионофоры	Валиномицин Грамицидин А	Проницаемость мембраны для ионов $K^+$ [12]; образование ионных каналов, специфичных для одновалентных катионов [13]
	Макролиды	Боррелидин	Ингибитор треонил-тРНК-синтетазы [14]
	Аминогликозиды	Канамицин Гентамицин Стрептомицин	Связывание 30S-субъединицы рибосомы, 16S рРНК, рибосомного белка S12, синтез aberrantных белков [15, 16]
	Тетрациклины	Доксициклин Миноциклин	Блок связывания аминоацил-тРНК с А-сайтом 30S-субъединицы рибосомы и мРНК [17]
	Аминопурины	Пуромицин	Связывание с А-сайтом и пептидил-тРНК, образование пептидилпуромицина, блок синтеза белка [18]
	Макролиды	Эритромицин Азитромицин	Связывание с 23S рРНК и рибосомными белками L4 и L22, синтез aberrantных белков [19]
	Фениколы	Хлорамфеникол	Блок активности пептидилтрансферазы [20]
	Альфамицины	Кирромицин Пульвомицин	Блок диссоциации EF-Tu:GDP из рибосомы, блок образования тройного комплекса EF-Tu:GTP:tRNA [21]
Синтез нуклеиновых кислот	Стероиды	Фузидиевая кислота	Блок диссоциации комплекса EF-G:GDP:рибосома [22]
	Антрациклины	Доксорубин Даунорубин	Арест клеточного цикла G2/M, повреждение ДНК, апоптоз [23]
		Митомицин С	Сшивка ДНК [24]
	Актиномицины	Дактиномицин	Связывание двунитовой ДНК (ssДНК), блок транскрипции [25]
	Рифамицины	Рифампицин	Связывание бета-субъединицы РНК-полимеразы [26]
Хинолоны	Налидиксовая кислота	Ингибитор гиразы [27]	
Антиметаболиты	Азасерин Саркомицин Шовдомицин		Блок синтеза пуринов и пиримидинов [28]

ты. Они взаимодействуют с ферментами, узнающими в норме природный метаболит, препятствуют взаимодействию с природными метаболитами и выводят их из зоны контакта в активном центре фермента. Примеры действия различных антибиотиков представлены в табл. 1.

Таким образом, большое разнообразие антибиотиков с широким арсеналом механизмов действия позволяет атаковать разные мишени, охватывая всю клетку. Тем не менее бактерии находят способы противостоять этой атаке.

### МЕХАНИЗМЫ УСТОЙЧИВОСТИ БАКТЕРИЙ К АНТИБИОТИКАМ

Устойчивость бактерий к антибиотикам может быть врожденной и приобретенной. Врожденная устойчивость характеризуется отсутствием у микроорганизмов мишени действия антибиотика или недоступностью мишени вследствие исходно низкой проницаемости клеточной стенки или ферментативной инактивации антимикробного агента. Такая устойчивость является видоспецифичной для бактерий. Приобретенная устойчивость возникает вследствие отбора микроорганизмов

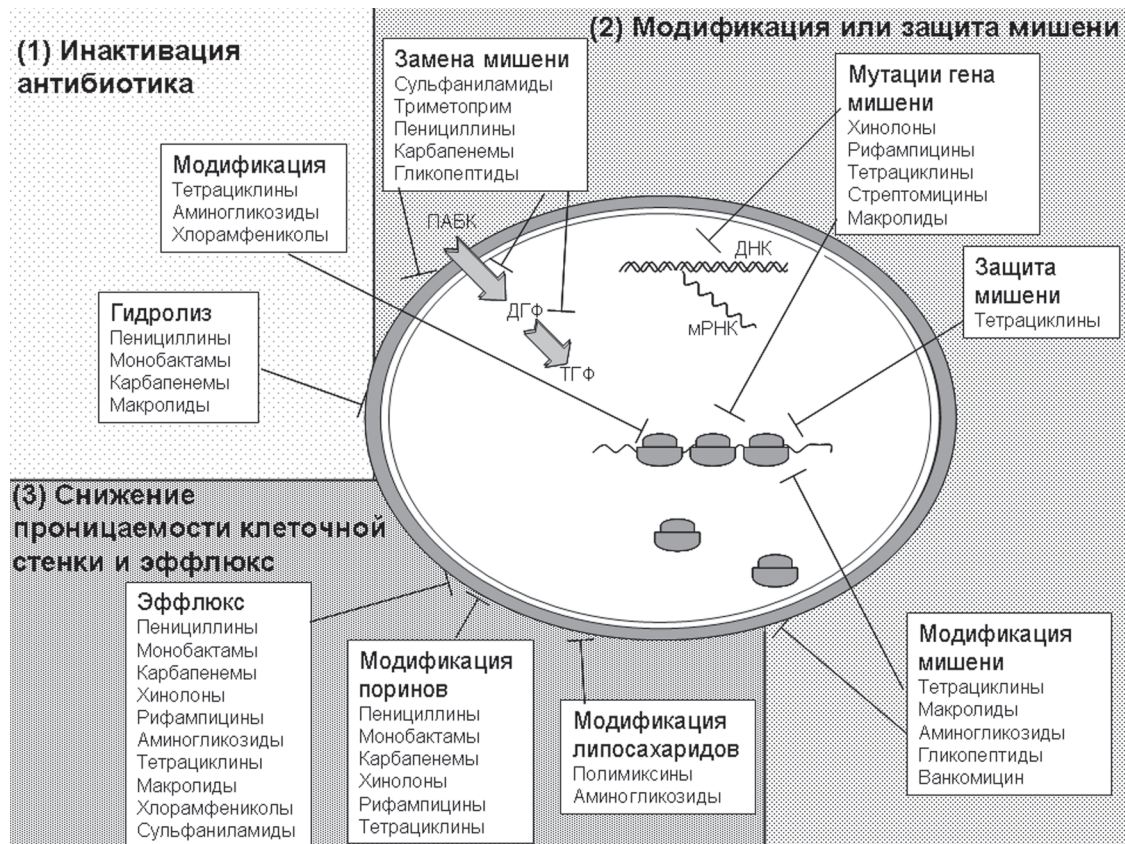


Рис. 2. Примеры бактериальной устойчивости к действию антибиотиков. Антибиотики сгруппированы по принципу бактериального ответа; цифрами обозначены группы механизмов устойчивости; линии обозначают инактивацию действия антибиотиков. ПАБК — парааминобензойная кислота; ДГФ — дигидрофолат; ТГФ — тетрагидрофолат

Fig. 2. Examples of drug resistance in bacteria. Antibiotics are grouped according to the principle of bacterial response; numbers mean group of resistance; lines indicate block of antibiotic action. PABA — para-aminobenzoic acid; DHF — dihydrofolate; THF — tetrahydrofolate

при действии антимикробного средства либо за счет возникновения мутаций хромосомной или плазмидной ДНК, либо путем горизонтального переноса генов устойчивости. Классификацию типов устойчивости можно проводить по группам антибиотиков [2]. Но так как биохимические механизмы устойчивости бактерий к антибиотикам из разных групп часто одинаковы, то удобной является классификация по механизмам устойчивости, при этом исследователи группируют их по-разному, выделяя от трех до пяти групп [29, 30, 75]. Разделение на три основные группы представляется наиболее логичным: 1) инактивация и модификация антибиотика; 2) модификация сайта-мишени, замена и защита мишени от действия антибиотика; 3) снижение концентрации антибиотика внутри клетки, в том числе и эффлюкс. Приобретенная устойчивость — штаммоспецифичный признак. Разные бактерии могут обладать разными механизмами устойчивости к одинаковым противомикробным агентам. Таким образом, устойчивость бактерий к антибиотикам может зависеть от бактерии, от агента и от механизма устойчивости [28]. Некото-

рые механизмы бактериальной резистентности к антибиотикам показаны на рис. 2.

**1. Энзиматическая инактивация антибиотиков.** Ярким примером этого типа устойчивости является гидролиз бета-лактамовых антибиотиков бета-лактамазами. Этих ферментов описано более тысячи, они различаются по субстратному спектру и ферментативной стабильности. Большинство генов, кодирующих бета-лактамазы, расположены на хромосоме, однако описаны ферменты, гены которых расположены на плазидах, в транспозонах или в генных кассетах. Сочетание генов различных бета-лактамаз на мультикопийных плазидах приводит к устойчивости к широкому спектру препаратов, а увеличение продукции этих ферментов может быть связано с мутациями в промоторных и аттенуаторных участках кодирующих их генов [28]. Кроме того, в борьбе с бета-лактамовыми антибиотиками бактерии сочетают механизм гидролитической инактивации с активным выведением антимикробного агента из клетки. Разнообразие бета-лактамаз может говорить о сильном селективном давлении и эффективном отборе генов устойчивости [31].

Энзиматическая инактивация тетрациклинов обусловлена работой NADP-зависимой монооксигеназы, в результате действия которой антибиотик утрачивает сродство к рибосоме и теряет активность. Описано более десяти генов, кодирующих эти ферменты, у различных как грамположительных, так и грамотрицательных бактерий из почвенных изолятов, а также из клинических изолятов человеческих патогенов [17]. К энзиматической инактивации макролидов приводят три класса ферментов: эстеразы, лиазы и трансферазы. Эстеразы гидролизуют лактонное кольцо макролидов, их гены ассоциированы с плазмидами и интегронами. Лиазы ингибируют антибиотик, раскрывая лактонное кольцо. А трансферазы ацетилируют молекулу антибиотика, что приводит к его инактивации [28]. Ферментативная инактивация аминогликозидов производится одним из трех типов модифицирующих ферментов: N-ацетилтрансферазами, O-аденилтрансферазами или O-фосфотрансферазами [32].

**2. Модификация сайта мишени.** В случае действия макролидов и стрептограминов модификация происходит с помощью рРНК-метилтрансфераз, кодируемых генами *erm*. Эти гены найдены у большого числа видов как грамположительных, так и грамотрицательных бактерий, они могут экспрессироваться конститутивно и индуцибельно, что говорит о возможности экспрессии при низкой концентрации антибиотика. Метилирование 23S рРНК в положении 2058 защищает ее от действия макролидов [33]. Метилирование 16S рРНК в положениях N7-G1405 и N1-A1408 препятствует связыванию аминогликозидов с А-сайтом рибосомы [34]. Модификация сайта мишени — это общий механизм устойчивости бактерий к гликопептидам. Гликопротеины связывают димеры D-Ala-D-Ala. У энтерококков были обнаружены четыре оперона D-Ala-D-Lac (содержащих гены *vanA*, *vanB*, *vanD* и *vanM*) и пять оперонов D-Ala-D-Ser (содержащих гены *vanC*, *vanE*, *vanG*, *vanL* и *vanN*). Продукты генов этих оперонов заменяют терминирующий аланин в димерах D-Ala-D-Ala на лактат или серин соответственно, что уменьшает способность гликопептидов связываться с пептидогликанами. Экспрессия оперонов D-Ala-D-Lac и D-Ala-D-Ser обуславливает различную устойчивость бактериальных штаммов к ванкомицину и тейкопланину [35].

**Защита мишени** например рибосомы, от действия тетрациклинов является важным тактическим ходом бактерий на пути развития механизмов устойчивости и также служит примером модификации мишени действия антибиотика. Белки RPP (Ribosomal Protection Proteins), защищающие рибосомы, кодируются плазмидными генами, а также мобильными геномными элементами. Это цитоплазматические белки, схожие с факторами элонгации EF-G и EF-Tu, их объединяют в суперсемейство ГТФаз. Взаимодействие RPP с рибосомой вызывает аллостерическое нарушение первич-

ного сайта связывания тетрациклинов, что приводит к высвобождению тетрациклина из рибосомы и восстанавливает ее функциональность [36].

В качестве примера **мутационных модификаций мишеней** антибиотиков можно привести мутации в 16S рРНК, обуславливающие устойчивость к тетрациклинам. Замена G1058C способствует нарушению конформации сайта связывания тетрациклинов. Устойчивость к антибиотикам возрастает в несколько раз при увеличении количества копий мутантных оперонов 16S рРНК или множественных мутаций в одном опероне [17]. Мутации в гене *rpsL* рибосомного белка S12 приводят к высокой стрептомицин-устойчивости. У микобактерий описаны замены в гене 16S рРНК, приводящие к резистентности к амикацину, канамицину, гентамицину, тобрамицину и неомицину, но не стрептомицину [37].

Мутации в гене *rpoB* *Mycobacterium tuberculosis*, кодирующем бета-субъединицу РНК-полимеразы, затрагивают участок связывания рифамицина, но не нарушают работу полимеразы. Более 90 % устойчивых к хинолонам штаммов микобактерий имеют мутации в генах, кодирующих субъединицы гиразы *gyrA* или *gyrB*, при этом наибольшую устойчивость демонстрируют двойные мутанты [37].

Примерами **замещения мишени** на белок, нечувствительный к действию антибиотика, могут служить альтернативные пенициллинсвязывающие белки, кодируемые генами *mecA* и *mecC* и замещающие первоначальные бета-лактам-чувствительные транспептидазы [28].

Сульфаниламиды ингибируют ферменты пути биосинтеза фолатов — дигидроптероатсинтетазы (DHPS) и дигидрофолатредуктазы (DHFR). Устойчивые к сульфаниламидам DHPS закодированы генами *sul1*, *sul2* и *sul3*, выявлены у грамотрицательных бактерий и ассоциированы в основном с транспозонами. DHFR, нечувствительные к сульфаниламидам, кодируются несколькими десятками генов *dfrA* и *dfrB*, представленными у разных видов бактерий [38, 39].

**3. Снижение внутриклеточной концентрации антибиотика.** Это самый распространенный механизм устойчивости к антимикробным агентам. Клеточная стенка грамотрицательных бактерий, как известно, служит естественным барьером для большинства антибиотиков. Однако у бактерий есть и другие способы ограничения доступа антибиотиков в клетку.

**Снижение поглощения** аминогликозидов может быть связано с изменениями заряда в фосфатах липополисахаридов в клетках *E. coli* и *Pseudomonas aeruginosa*. Так как проникновение аминогликозидов через цитоплазматическую мембрану главным образом основано на системе транспорта электронов, то такое изменение заряда нарушает проницаемость мембраны для аминогликозидов [28]. Бета-лактамы преодолевают

внешнюю мембрану, используя пориновые каналы бактерий. Устойчивость к бета-лактамам может быть основана на уменьшении экспрессии или мутациях в структурных генах поринов [40, 41].

Помимо этого у бактерий есть механизм активного выведения антибиотиков из клетки, связанный с работой специализированных белковых трансмембранных помп, так называемый **активный эффлюкс**. Таким способом из клетки могут выводиться практически все классы антибиотиков, кроме гликопептидов, что может приводить к множественной устойчивости к антибиотикам у самых разных видов бактерий [42]. Трансмембранные помпы в настоящее время разделяют на пять классов: 1) суперсемейство ABC (АТФ-Binding Cassette) транспортеров; 2) суперсемейство основных транспортеров MFS (Major Facilitator Superfamily); 3) семейство RND (Resistance Nodulation and cell Division); 4) семейство SMR (Small Multi-drug Resistance) и 5) семейство MATE (Multidrug And Toxic compound Extrusion).

Транспортные белки, входящие в суперсемейство ABC-транспортеров, для переноса используют энергию АТФ. В основном эти каналы обеспечивают специфическую лекарственную устойчивость. Примером ABC-транспортеров могут служить белки, кодируемые локусом *mefA*, предназначенные для вывода макролидов, и локусом *OptrA*, участвующие в эффлюксе феникола [43].

Остальные классы трансмембранных помп используют для переноса энергии протонного градиента или градиента ионов  $\text{Na}^+$  и обеспечивают множественную лекарственную устойчивость у грамположительных или грамотрицательных бактерий [43].

Таким образом, устойчивость бактериальных клеток к антибиотикам может определяться целым рядом генов, кодирующих специфические белки, разрушающие антибиотики (бета-лактамазы), защищающие мишень действия антибиотика (гены белков RPP), обеспечивающие активный эффлюкс антибиотиков (локус *tar* и другие гены транспортеров). Кроме того, устойчивость может быть связана с мутациями генов, кодирующих мишени действия антибиотиков. Однако сложно представить себе, что все эти многочисленные варианты генов, придающие бактериям устойчивость к нескольким антибиотикам одновременно, могут возникнуть за короткий срок в одном штамме благодаря мутационному процессу. Бактерии нашли другой путь достижения МЛУ — разнообразные механизмы горизонтального переноса, позволяющие даже филогенетически отдаленным видам бактерий обмениваться генетической информацией.

### МЕХАНИЗМЫ ГОРИЗОНТАЛЬНОГО ПЕРЕНОСА

Основными механизмами горизонтального переноса являются трансдукция, конъюгация и трансформация. С помощью этих механизмов бактерии способны обмениваться как плазмидами, так и разнообразными мобильными элементами.

**Трансдукция** представляет собой важный механизм в геномной эволюции прокариот. Значительная часть прокариотического сообщества, существующего в почвенных и водных экосистемах, инфицирована фагами [2]. Бактериофаги, активируя литический цикл, могут захватывать участки бактериального генома и, таким образом, играть важную роль в горизонтальном переносе генов между бактериями. Примером такой передачи может служить МЛУ штамма DT104 *Salmonella typhimurium* [44]. При метагеномном исследовании проб из сточных и речных вод в ДНК фагов было выявлено присутствие генов устойчивости к бета-лактамам *blaTEM* и *blaCTX-M* энтеробактерий, а также гена *mecA*, отвечающего за устойчивость *S. aureus* к метициллину [45]. Для трех штаммов MRSA, два из которых изолированы в клиниках Японии в разные годы, а один в США, было проведено полногеномное секвенирование и показано, что фаги способствуют мобилизации участка хромосомы *SCCmec* (Staphylococcal Cassette Chromosome *mec*), содержащего ген устойчивости *mecA* [46]. Это свидетельствует о большой роли фагов в передаче генов устойчивости между бактериями, особенно в условиях окружающей среды, где плазмиды и транспозоны оказываются менее стабильными, чем фаги [45].

Еще один механизм горизонтального переноса — **конъюгация**. У грамотрицательных бактерий для этого процесса используется система секреции IV типа, что приводит к образованию пилей, создающих межклеточные контакты между бактериями. Однако некоторые бактерии могут формировать контакты с поверхностью различных типов клеток, включая не только грамотрицательные, грамположительные бактерии, но и дрожжи, растительные и животные клетки [47]. Грамположительные энтерококки используют систему переноса плазмид, которая запускается в ответ на продукцию феромонов реципиентом. В итоге это приводит к агрегации клеток донора и реципиента [48]. Каждый тип системы переноса активируется различными феромонами. Уже имеющиеся в бактериальной клетке плазмиды не только супрессируют продукцию и высвобождение родственных феромонов, но и продуцируют их пептиды-антагонисты. Система тонко регулируется, позволяя перенос только к ограниченной группе бактериальных видов. Однако существуют исключения: например, золотистый стафилококк продуцирует родственные энтерококкам феромоны и тем самым стимулирует энтерококки вступать в конъюгацию, что способствует межродовому распространению признаков, например устойчивости к ванкомицину [49].

Грамположительные бактерии передают генетический материал по естественным мостикам, образованным гифами, или используют конъюгативный аппарат, более похожий на таковой у грамотрицательных бактерий [50].

И наконец, еще один способ передачи чужеродной ДНК — **трансформация**. При трансформации необходимы высвобождение и стабилизация экстраклеточной ДНК, наличие компетентных клеток и способность стабилизировать полученную ДНК рекомбинацией. Большое число видов разных бактерий и архей характеризуется естественной компетентностью — способностью включать ДНК из окружающей среды, в том числе этой способностью обладают клинические изоляты *Helicobacter*, *Neisseria*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Vibrio* и др. [51]. Состояние компетентности длится ограниченное время: оно появляется в ответ на определенные условия (доступ к питательным веществам, плотность клеток), его обеспечивают 20–50 белков, компетентными могут быть от 0 до почти 100 % клеток в популяции. Условия и факторы, регулирующие компетентность, очень варьируют для разных видов и штаммов бактерий [52].

Грамположительные бактерии содержат две группы генов: ранние гены, продукты которых обеспечивают статус компетентности; и поздние гены, их продукты необходимы для связывания, импорта и рекомбинации ДНК. Грамотрицательные бактерии образуют пили с помощью системы секреции IV типа, через которые и осуществляется поглощение ДНК [53]. Кроме того, было показано, что компетентность активируется в ответ на присутствие некоторых антибиотиков [53].

ДНК для трансформации бактерии получают из разрушенных клеток или вирусных частиц. Кроме того, активная экскреция ДНК из живых клеток характерна для многих родов бактерий [54]. ДНК присутствует везде: в почве, еде, воде, кормах, иле; примерно 1 мкг ДНК может находиться в 1 г твердого материала, и от 0,03 до 88 мкг ДНК присутствует в литре пресной или морской воды [50]. Скорость деградации ДНК зависит от ее размера: мелкие плазмиды, такие как pBR322 и RSF1030, деградируют в человеческой крови или плазме значительно медленнее больших, а значит, могут быть поглощены другими бактериями в других органах [50].

Ограничение на горизонтальный перенос генов накладывает существование межвидового барьера в передаче чужеродной ДНК, создающегося за счет поверхностного исключения, различных систем рестрикции-модификации, а также ограничения репликации плазмид [54]. Поверхностное исключение не является абсолютным барьером для переноса большинства плазмид, а скорее обеспечивает разбиение пар клеток после переноса генов и высвобождение реципиента, для того чтобы он мог передать плазмиды новым потенциальным реципиентам [50]. Системы рестрикции-модификации не способны создавать межвидовые барьеры для передачи многих плазмид с широким кругом хозяев, поскольку такие плазмиды утратили большую часть сайтов рестрикции [56]. Барьер репликации плазмид,

связанный с совместимостью систем репликации плазмиды с хозяйскими белками (ДНК-полимеразой III, белком Ssb и гистонподобными белками), также не ограничивает передачу плазмид с широким кругом хозяев. Такие плазмиды, как правило, имеют более гибкую систему репликации, обеспечивающую рекрутирование хозяйских белков [57].

Таким образом, разные бактериальные виды используют разные механизмы горизонтального переноса. Разнообразие этих механизмов ограничивает межвидовую передачу, поглощение и стабилизацию чужеродной ДНК из бактерий [50].

Кроме традиционных и хорошо охарактеризованных механизмов передачи генетической информации недавно у бактерий был описан совершенно новый механизм, позволяющий обмениваться практически любыми внутриклеточными молекулами вплоть до плазмид. Обмен между соседними клетками происходит благодаря нанотрубкам, представляющим собой мембранные выросты. Такие структуры способны образовывать даже неродственные бактерии, например, взаимодействие этого типа обнаружено как между различными грамположительными бактериями, такими как *Bacillus subtilis* и *S. aureus*, так и между грамположительными и грамотрицательными бактериями, например *B. subtilis* и *E. coli* [58].

Итак, в целом разные бактериальные виды используют разные механизмы горизонтального переноса, число этих процессов ограничивает передачу, поглощение и стабилизацию чужеродной ДНК из разных видов бактерий. Кроме того, чужеродная ДНК, не имеющая гомологии, не может интегрироваться в хромосому или плазмиду, а значит, деградирует. Но различные барьеры межвидовой передачи генов не абсолютны, и это позволяет бактериям создавать адаптивные варианты штаммов, несущие варианты генов, мобильных элементов и плазмид от разных «родителей».

## ЭЛЕМЕНТЫ, ОСУЩЕСТВЛЯЮЩИЕ ГОРИЗОНТАЛЬНЫЙ ПЕРЕНОС ГЕНОВ

Основными элементами, осуществляющими горизонтальный перенос генов, являются плазмиды, в том числе R-плазмиды, связанные с распространением генов устойчивости к антибиотикам. Помимо различных плазмид, бактерии обладают целым спектром разнообразных мобильных элементов для горизонтального переноса: к ним относятся инсерционные последовательности (**IS** — Insertion Sequences и **ISCR** — Insertion Sequences with Common Region), транспозоны (**Tn**), интегроны, интегрирующие конъюгативные и мобилизуемые элементы (**ICE** — Integrative Conjugative Elements, **IME** — Integrative Mobilizable Elements), геномные островки (**GI** — Genome Island).

Большинство **R-плазмид** состоит из двух участков ДНК: RTF (Resistance Transfer Factor) и  $\gamma$ -детерминанты. RTF со-



держит гены, регулирующие репликацию ДНК и число копий плазмиды, гены переноса (transfer) и иногда гены устойчивости к тетрациклину (tet). *g*-Детерминанта имеет варьирующий размер и содержит другие гены устойчивости к различным антибиотикам. Двухкомпонентные R-плазмиды возникли в результате приобретения транспозонов с генами устойчивости к антибиотикам [59]. Эти плазмиды могут ассоциировать и диссоциировать. Существование такого равновесия дает возможность для возникновения феномена амплификации генов устойчивости, что приводит к возникновению штаммов, устойчивых к более высоким дозам антибиотиков [60]. Ассоциация и диссоциация происходят в результате рекомбинации между IS-элементами, присутствующими и в RTF, и в *g*-детерминанте. При ассоциации рекомбинация происходит между IS, расположенными на разных кольцах, а при диссоциации рекомбинация между элементами одного кольца приводит к сегрегации двухкольцевых молекул ДНК. Известно, что с началом «эры антибиотиков» количество R-плазмид в природе возросло. Например, пенициллин стал активно использоваться с начала 1940-х гг. Тогда только 6 % штаммов *S. aureus*, изолированных в больницах, были устойчивы к пенициллину. Доля устойчивых штаммов в 1950-х гг. составила 50 % и с каждым годом росла. В настоящий момент она колеблется от 90 до 100 % [61]. Большинство этих устойчивых штаммов содержат или R-плазмиду, или типичный для R-плазмид ген *pen-r*.

Многие плазмиды не способны к автономной передаче, но могут быть мобилизованы в присутствии конъюгативных плазмид благодаря взаимодействию мобилизационных белков, кодируемых плазмидами и собирающихся на ориджине переноса.

Было показано, что частоты конъюгативной передачи R-плазмид в природе на несколько порядков выше, чем в лабораторных условиях. Обмен плазмидами в кишечных трактах животных и людей происходит, что называется, свободно [62].

Целый спектр мобильных элементов способен переносить гены как в пределах одной молекулы ДНК, так и между разными молекулами в одной клетке и может обеспечить межклеточное распространение генов в ходе конъюгации, трансдукции и трансформации.

**IS** — это первые мобильные элементы, которые были открыты у бактерий. Эти элементы содержат транскрипционные стоп-сигналы (кроме IS1), а также терминаторы трансляции во всех возможных рамках. На концах каждого IS-элемента находятся инвертированные повторы размером 16–41 п. н., размер повтора специфичен для каждого элемента. IS-элементы могут интегрироваться в любой ориентации, но, как правило, содержат как минимум две открытые рамки считывания, кодирующие транспозазу (необходимую для перемещения IS) и белок, регулирующий активность транспозазы. И хотя IS не содержат селективных маркеров, они

способны переносить гены устойчивости, оказавшиеся между двух IS-элементов [63].

Другим типом мобильных элементов являются атипичные инсерционные последовательности, или **ISCR**. Они, в отличие от IS, не содержат инвертированных концевых повторов, для них характерно присутствие последовательностей, названных CR-элементами. ISCR способны независимо реплицироваться по механизму «катящегося кольца», перемещая себя и рядом находящиеся гены устойчивости. Изучение этих мобильных элементов затруднено из-за сложности определения места их слияния с хозяйской ДНК [64]. ISCR, как и другие транспозоны, имеют большое значение при создании блоков генов в крупных мобильных элементах, таких как ICE, интегроны, геномные островки.

**Транспозоны** представляют собой еще один многочисленный класс элементов, участвующих в горизонтальном переносе [63]. Транспозоны разделяют на сложные и простые, которые, вероятно, произошли от сложных. Сложные транспозоны, возможно, возникли из IS-элементов, которые случайно оказались рядом друг с другом. Они содержат гены устойчивости к антибиотикам, фланкированные идентичными (или почти идентичными) копиями IS-элементов. Инактивация одного элемента мутацией не нарушит способности к перемещению самого транспозона. В случае если транспозон локализуется на небольшой плазмиде, то он ведет себя как два различных транспозона. В результате этого «кассеты» генов, фланкированные IS-элементами, могут перемещаться по геному [63].

Важный вклад в горизонтальный перенос и распространение генов устойчивости вносят и более сложные модульные системы: интегроны, ICE, IME и геномные островки.

**Интегроны** — рекомбинационная система, способная захватывать гены в форме кассет. Хотя интегроны не являются мобильными элементами сами по себе, их связь с транспозонами, IS и конъюгативными плазмидами делает их основными векторами для распространения генов устойчивости к антибиотикам внутри и между различными видами бактерий [65]. Структура интегрона изображена на рис. 3. Кассеты представляют собой кольцевые нерепликативные элементы, содержащие гены без промоторов. Таким образом, экспрессия генов кассет осуществляется только при вставке кассеты в состав интегрона в участок, который находится ближе всего к промотору интегрона (см. рис. 3). Резервные кассеты могут случайно вырезаться и интегрировать в первую позицию массива кассет, где их экспрессия будет максимальной. Поэтому последовательность кассет в интегрене отражает историю адаптаций бактериального штамма [66].

Среди интегронов есть хромосомные интегроны (CI, от Chromosomal Integrations) и мобильные (MI, от Mobile Integrations), расположенные на плазмидах. CI могут быть

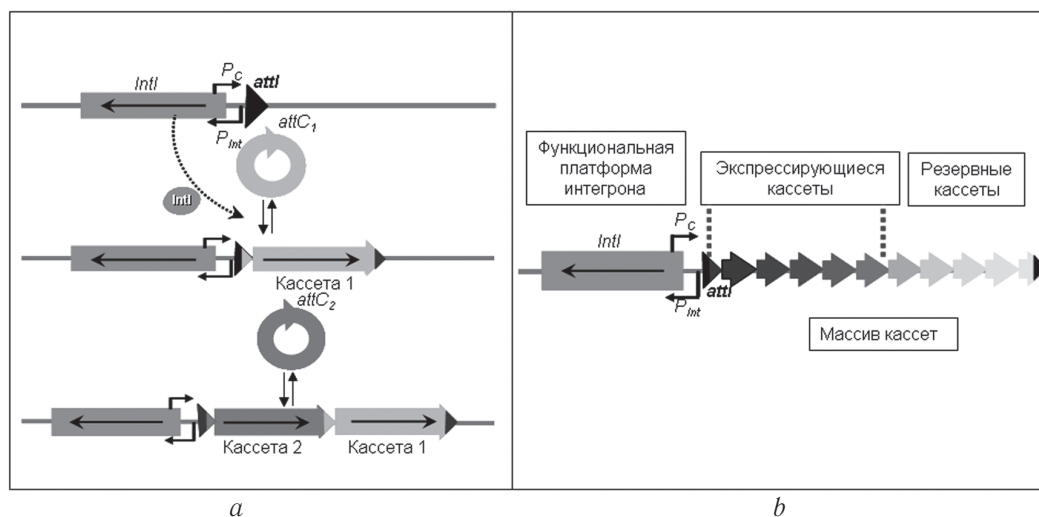


Рис. 3. Организация интегрона: *a* — инсерция и вырезание кассет: функциональная платформа содержит ген интегразы *intI*, промотор интегразы — *P<sub>int</sub>*, промотор кассет — *P<sub>c</sub>* и *attI* — рекомбинационный сайт в функциональной платформе интегрона; *attC* — рекомбинационный сайт в кассете. Инсерция и вырезание кассеты катализируются интегразой *IntI* с образованием гибридного сайта. Стрелки внутри кассет указывают направление открытых рамок считывания; *b* — экспрессия кассет. Кассеты обозначены короткими стрелками, уровень экспрессии обозначен интенсивностью цвета стрелок (модифицировано из [66])

Fig. 3. Organization of integron: *a* – Insertion and excision of cassettes: the functional platform, composed of the integrase-encoding *intI* gene, the cassette (*P<sub>c</sub>*) and integrase promoter (*P<sub>int</sub>*), and the primary *attI* recombination site. The *IntI* integrase catalyzes cassette insertion and excision. Hybrid *attI* and *attC* sites are indicated. Arrows inside the cassettes indicate the direction of the open reading frame; *b* — expression of cassettes: cassettes of the array are represented by short arrows, expression level is reflected by the color intensity of each arrow (modified from [66])

очень большими и объединять несколько сотен кассет, функции большинства из которых еще предстоит выяснить [67], в то время как *MI* содержат до 8 кассет с функцией устойчивости к разным антибиотикам. Такие элементы дают бактериям преимущество быстрой адаптации в изменяющихся условиях и возможность формирования клинически значимых штаммов, характеризующихся *MLU* [65].

Важно отметить, что рекомбинация кассет интегрона тесно связана с физиологией клетки. Если в стабильных условиях излишняя рекомбинационная активность интегразы не нужна, то наличие антибиотиков в среде является стрессовым фактором, запускающим экспрессию гена *intI*. Показано, что присутствие многих антибиотиков прямо или косвенно запускает *SOS*-ответ, а промоторная область гена интегразы содержит сайт связывания белка LexA, основного репрессора *SOS*-регулона. Повреждение и репарация ДНК приводят к продукции *ss*-ДНК в клетке, что сигнализирует об активации *SOS*-системы и одновременно запускает рекомбинацию интегронов [68]. Кроме того, *ss*ДНК появляется во время конъюгации и трансформации, что также активирует поиск для захвата новых кассет [69].

Другие более крупные мобильные элементы бактерий имеют сложную, еще не устоявшуюся классификацию. Так, *ICE* раньше относили к интегративным

транспозонам, позднее выделили класс *IME*, в отличие от *ICE* неспособных к самостоятельному перемещению, а **геномные островки** представляют собой еще более крупные мобильные элементы. Все эти типы элементов фланкированы совершенными прямыми повторами, которые служат мишенью для вырезания. Эти элементы содержат функциональные, или скрытые, гены интеграз и способны интегрировать в прокариотическую хромосому и передаваться с помощью конъюгации другим хозяевам [70]. Этот перенос происходит по механизму катящегося кольца [71]. В обычных условиях (лог-фаза роста) *ICE*, *IME* или *GI* в хромосоме неактивны, передаются только в ряду клеточных поколений, и горизонтальный перенос идет с очень низкой частотой, однако при определенных условиях (активация *SOS*-системы, стационар или высокая плотность клеток) происходит активация передачи мобильных элементов реципиентам. Кроме того, запуск горизонтального переноса таких элементов происходит в присутствии антибиотиков, например, наличие тетрациклина включает ген устойчивости *tetR* в *Tn916*, что запускает экспрессию интегразы и приводит к мобилизации *ICE* [72].

Горизонтальный перенос не является спонтанным событием — существует тонко регулируемая система контроля активности мобильных элементов, служащая объектом эволюционных изменений и селекции этих мобильных элементов.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Устойчивость к антимикробным веществам — это древнее свойство бактерий, возникшее в результате их взаимодействия с окружающей их средой. Более того, большинство антимикробных соединений продуцируют сами микроорганизмы, и естественно, что они обладают врожденной устойчивостью к одному или нескольким противомикробным веществам. Однако серьезную проблему на сегодняшний день представляет приобретенная устойчивость. Причем в клинической практике к настоящему времени помимо МЛУ (Multiply Drug Resistance, MDR) к нескольким типам антибиотиков принято выделять устойчивость к широкому спектру антибиотиков (*extensively drug-resistant*, XDR) и устойчивость ко всем классам антибиотиков (*pandrug-resistant*, PDR) [73]. Прокариоты избрали свою эволюционную стратегию: основным способом рекомбинации генетического материала у них служит горизонтальный перенос генов с помощью как автономно реплицирующихся молекул ДНК, так и разнообразных мобильных элементов. Биоинформатический и метагеномный анализ показал, что большинство генов (если не все прокариотические гены) участвовали в горизонтальном переносе между видами [74]. «Выживание наиболее приспособленных» является следствием огромной генетической пластичности бактериальных патогенов, которая приводит к мутационным адаптациям, приобретению генетического материала или изменению генной экспрессии, придающим устойчивость практически ко всем антибиотикам, доступным в настоящее время в клинической практике. Кроме того, из-за выброса в окружающую среду большого количества токсичных ароматических и галогеносодержащих веществ (не только антибиотиков, но и гербицидов и т. д.) появились мутанты, способные их утилизировать. В дальнейшем гены с приобретенными мутациями с помощью горизонтального переноса могли быть собраны в одной клетке. В результате под действием отбора, несмотря на механизмы межвидового барьера, бактерии приобрели способность обмениваться любой частью генома. Штаммы со множественной лекарственной устойчивостью описаны уже не только в клинических изолятах, но и в естественной природе. Уже можно говорить о природных резервуарах устойчивых к антибиотикам бактерий, грозящих новыми рисками распространения и появления новых патогенных видов бактерий с МЛУ, которые раньше не были клинически значимы [2]. Бактериальный ответ на антибактериальное «нападение» — это яркий пример адаптации и вершина эволюции. И тем не менее использование антибиотиков остается осознанной необходимостью в клинической практике, а при разработке новых антибиотиков необходимо понимание того, что микроорганизмы будут реагировать на них и устойчивость к ним будет развиваться [75].

Итак, бактериальное сообщество может быть рассмотрено как один сборный геном (так называемый «супергеном»). То есть конкретной клетке не обязательно иметь все гены устойчивости к антибиотикам и передавать их в ряду поколений в ожидании, когда сложатся условия, в которых гены резистентности будут давать селективное преимущество. Достаточно, если в микробиоме или сообществе микроорганизмов будут присутствовать разные клетки, относящиеся даже к разным видам и обладающие генами устойчивости или генами, ответственными за патогенез, и т. д. Под действием отбора и с помощью горизонтального переноса всегда возможно объединение необходимых генов устойчивости с мутантными вариантами генов — мишеней антибиотиков, что приведет к возникновению нового адаптированного варианта штамма.

## БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (проект 18-14-00050). Раздел «Элементы, осуществляющие горизонтальный перенос генов» написан в рамках гостемы № 0112-2016-0015.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Равин Н.В. Шестаков С.В. Геном прокариот // Вавиловский журнал генетики и селекции. — 2013. — Т. 17. — № 4–2. — С. 972–984. [Ravin NV, Shestakov SV. The genome of prokaryotes. *Vavilov journal of genetics and breeding*. 2013;17(4-2):972-984. (In Russ.)]
2. Lupo A, Coyne S, Berendonk TU. Origin and evolution of antibiotic resistance: the common mechanisms of emergence and spread in water bodies. *Front Microbiol*. 2012;3:18. doi: 10.3389/fmicb.2012.00018.
3. Hawkey PM, Jones AM. The changing epidemiology of resistance. *J Antimicrob Chemother*. 2009;64 Suppl 1: i3-10. doi: 10.1093/jac/dkp256.
4. Chang NH, Cohen T, Grad YH, et al. Origin and proliferation of multiple-drug resistance in bacterial pathogens. *Microbiol Mol Biol Rev*. 2015;79(1):101-16. doi: 10.1128/MMBR.00039-14.
5. Ланчини Д., Паренти Ф. Антибиотики. — М.: Мир, 1985. [Lancini G, Parenti F. *Antibiotics*. Moscow: Mir; 1985. (In Russ.)]
6. Duax WL, Griffin JF, Langs DA, et al. Molecular structure and mechanisms of action of cyclic and linear ion transport antibiotics. *Biopolymers*. 1996;40(1):141-55. doi: 10.1002/(sici)1097-0282(1996)40:1<141::aid-bip6>3.0.co;2-w.
7. Tassoni R, van der Aart LT, Ubbink M, et al. Structural and functional characterization of the alanine racemase from *Streptomyces coelicolor* A3(2). *Biochem Biophys Res Commun*. 2017;483(1):122-128. doi: 10.1016/j.bbrc.2016.12.183.

8. Kang H-K, Park Y. Glycopeptide Antibiotics: Structure and Mechanisms of Action. *J Bacteriol Virol.* 2015;45(2):67. doi: 10.4167/jbv.2015.45.2.67.
9. Santoro A, Cappello AR, Madeo M, et al. Interaction of fosfomycin with the glycerol 3-phosphate transporter of Escherichia coli. *Biochim Biophys Acta.* 2011;1810(12):1323-1329. doi: 10.1016/j.bbagen.2011.07.006.
10. Konaklieva MI. Molecular Targets of beta-Lactam-Based Antimicrobials: Beyond the Usual Suspects. *Antibiotics (Basel).* 2014;3(2):128-142. doi: 10.3390/antibiotics3020128.
11. Velkov T, Roberts KD, Nation RL, et al. Pharmacology of polymyxins: new insights into an 'old' class of antibiotics. *Future Microbiol.* 2013;8(6):711-724. doi: 10.2217/fmb.13.39.
12. Iacobazzi RM, Annese C, Azzariti A, et al. Antitumor potential of conjugable valinomycins bearing hydroxyl sites: *in vitro* studies. *ACS Med Chem Lett.* 2013;4(12):1189-1192. doi: 10.1021/ml400300q.
13. Kelkar DA, Chattopadhyay A. The gramicidin ion channel: a model membrane protein. *Biochim Biophys Acta.* 2007;1768(9):2011-2025. doi: 10.1016/j.bbamem.2007.05.011.
14. Fang P, Yu X, Jeong SJ, et al. Structural basis for full-spectrum inhibition of translational functions on a tRNA synthetase. *Nat Commun.* 2015;6:6402. doi: 10.1038/ncomms7402.
15. Kotra LP, Haddad J, Mobashery S. Aminoglycosides: Perspectives on Mechanisms of Action and Resistance and Strategies to Counter Resistance. *Antimicrob Agents Chemother.* 2000;44(12):3249-3256. doi: 10.1128/aac.44.12.3249-3256.2000.
16. Vila-Sanjurjo A, Lu Y, Aragonez JL, et al. Modulation of 16S rRNA function by ribosomal protein S12. *Biochim Biophys Acta.* 2007;1769(7-8):462-471. doi: 10.1016/j.bbaxp.2007.04.004.
17. Nguyen F, Starosta AL, Arenz S, et al. Tetracycline antibiotics and resistance mechanisms. *Biol Chem.* 2014;395(5):559-575. doi: 10.1515/hsz-2013-0292.
18. Liu J, Xu Y, Stoleru D, Salic A. Imaging protein synthesis in cells and tissues with an alkyne analog of puromycin. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2012;109(2):413-8. doi: 10.1073/pnas.1111561108.
19. Bulkley D, Innis CA, Blaha G, Steitz TA. Revisiting the structures of several antibiotics bound to the bacterial ribosome. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2010;107(40):17158-17163. doi: 10.1073/pnas.1008685107.
20. Thompson J, O'Connor M, Mills JA, Dahlberg AE. The Protein Synthesis Inhibitors, Oxazolidinones and Chloramphenicol, Cause Extensive Translational Inaccuracy *in vivo*. *J Mol Biol.* 2002;322(2):273-279. doi: 10.1016/s0022-2836(02)00784-2.
21. Prezioso SM, Brown NE, Goldberg JB. Efamycins: inhibitors of elongation factor-Tu. *Mol Microbiol.* 2017;106(1):22-34. doi: 10.1111/mmi.13750.
22. Gao YG, Selmer M, Dunham CM, et al. The structure of the ribosome with elongation factor G trapped in the posttranslocational state. *Science.* 2009;326(5953):694-699. doi: 10.1126/science.1179709.
23. Denel-Bobrowska M, Lukawska M, Bukowska B, et al. Molecular mechanism of action of oxazolinoanthracyclines in cells derived from human solid tumors. Part 2. *Toxicol In Vitro.* 2018;46:323-334. doi: 10.1016/j.tiv.2017.10.021.
24. Tomasz M. Mitomycin C: small, fast and deadly (but very selective). *Chem Biol.* 1995;2(9):575-579. doi: 10.1016/1074-5521(95)90120-5.
25. Sobell HM. Actinomycin and DNA transcription. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1985;82(16):5328-5331. doi: 10.1073/pnas.82.16.5328.
26. Ma C, Yang X, Lewis PJ. Bacterial Transcription as a Target for Antibacterial Drug Development. *Microbiol Mol Biol Rev.* 2016;80(1):139-160. doi: 10.1128/MMBR.00055-15.
27. Aldred KJ, Kerns RJ, Osheroff N. Mechanism of quinolone action and resistance. *Biochemistry.* 2014;53(10):1565-1574. doi: 10.1021/bi5000564.
28. van Duijkeren E, Schink AK, Roberts MC, et al. Mechanisms of Bacterial Resistance to Antimicrobial Agents. *Microbiol Spectr.* 2018;6(1). doi: 10.1128/microbiolspec.ARBA-0019-2017.
29. Nikaido H. Multidrug resistance in bacteria. *Annu Rev Biochem.* 2009;78:119-146. doi: 10.1146/annurev.biochem.78.082907.145923.
30. Kumar S, Varela M. Molecular mechanisms of bacterial resistance to antimicrobial agents. Microbial pathogens and strategies for combating them: science, technology and education. Ed by A. Méndez-Vilas. Badajoz: Formatex Research Center; 2013. P. 522-534.
31. Bush K. New beta-lactamases in gram-negative bacteria: diversity and impact on the selection of antimicrobial therapy. *Clin Infect Dis.* 2001;32(7):1085-1089. doi: 10.1086/319610.
32. Ramirez MS, Tolmasky ME. Aminoglycoside modifying enzymes. *Drug Resist Updat.* 2010;13(6):151-71. doi: 10.1016/j.drug.2010.08.003.
33. Weisblum B. Erythromycin resistance by ribosome modification. *Antimicrob Agents Chemother.* 1995;39(3):577-585. doi: 10.1128/aac.39.3.577.
34. Wachino J, Arakawa Y. Exogenously acquired 16S rRNA methyltransferases found in aminoglycoside-resistant pathogenic Gram-negative bacteria: an update. *Drug Resist Updat.* 2012;15(3):133-148. doi: 10.1016/j.drug.2012.05.001.
35. Gudeta DD, Moodley A, Bortolaia V, Guardabassi L. vanO, a new glycopeptide resistance operon in environ-

- mental *Rhodococcus equi* isolates. *Antimicrob Agents Chemother.* 2014;58(3):1768-1770. doi: 10.1128/AAC.01880-13.
36. Connell SR, Tracz DM, Nierhaus KH, Taylor DE. Ribosomal Protection Proteins and Their Mechanism of Tetracycline Resistance. *Antimicrob Agents Chemother.* 2003;47(12):3675-3681. doi: 10.1128/aac.47.12.3675-3681.2003.
37. Cohen KA, Bishai WR, Pym AS. Molecular Basis of Drug Resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. *Microbiol Spectr.* 2014;2(3). doi: 10.1128/microbiolspec.MGM2-0036-2013.
38. Lopez M, Kadlec K, Schwarz S, Torres C. First detection of the staphylococcal trimethoprim resistance gene *dirK* and the *dirK*-carrying transposon Tn559 in enterococci. *Microb Drug Resist.* 2012;18(1):13-18. doi: 10.1089/mdr.2011.0073.
39. Lopez M, Kadlec K, Schwarz S, Torres C. First detection of the staphylococcal trimethoprim resistance gene *dirK* and the *dirK*-carrying transposon Tn559 in enterococci. *Microb Drug Resist.* 2012;18(1):13-18. doi: 10.1089/mdr.2011.0073.
40. Simonet V, Mallea M, Pages JM. Substitutions in the Eyelet Region Disrupt Cefepime Diffusion through the *Escherichia coli* OmpF Channel. *Antimicrob Agents Chemother.* 2000;44(2):311-315. doi: 10.1128/aac.44.2.311-315.2000.
41. Wolter DJ, Hanson ND, Lister PD. Insertional inactivation of *oprD* in clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* leading to carbapenem resistance. *FEMS Microbiol Lett.* 2004;236(1):137-143. doi: 10.1016/j.femsle.2004.05.039.
42. Andersen JL, He GX, Kakarla P, et al. Multidrug efflux pumps from Enterobacteriaceae, *Vibrio cholerae* and *Staphylococcus aureus* bacterial food pathogens. *Int J Environ Res Public Health.* 2015;12(2):1487-1547. doi: 10.3390/ijerph120201487.
43. Marquez B. Bacterial efflux systems and efflux pumps inhibitors. *Biochimie.* 2005;87(12):1137-1147. doi: 10.1016/j.biochi.2005.04.012.
44. Schmieger H, Schicklmaier P. Transduction of multiple drug resistance of *Salmonella enterica* serovar typhimurium DT104. *FEMS Microbiol Lett.* 1999;170(1):251-256. doi: 10.1111/j.1574-6968.1999.tb13381.x.
45. Colomer-Lluch M, Jofre J, Muniesa M. Antibiotic resistance genes in the bacteriophage DNA fraction of environmental samples. *PLoS One.* 2011;6(3):e17549. doi: 10.1371/journal.pone.0017549.
46. Ito T, Okuma K, Ma XX, et al. Insights on antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* from its whole genome: genomic island SCC. *Drug Resist Updat.* 2003;6(1):41-52. doi: 10.1016/s1368-7646(03)00003-7.
47. Giebelhaus LA, Frost L, Lanka E, et al. The Tra2 core of the IncP(alpha) plasmid RP4 is required for intergeneric mating between *Escherichia coli* and *Streptomyces lividans*. *J Bacteriol.* 1996;178(21):6378-6381. doi: 10.1128/jb.178.21.6378-6381.1996.
48. Waters CM, Dunny GM. Analysis of functional domains of the *Enterococcus faecalis* pheromone-induced surface protein aggregation substance. *J Bacteriol.* 2001;183(19):5659-5667. doi: 10.1128/JB.183.19.5659-5667.2001.
49. Flannagan SE, Clewell DB. Identification and characterization of genes encoding sex pheromone cAM373 activity in *Enterococcus faecalis* and *Staphylococcus aureus*. *Mol Microbiol.* 2002;44(3):803-817. doi: 10.1046/j.1365-2958.2002.02922.x.
50. Thomas CM, Nielsen KM. Mechanisms of, and barriers to, horizontal gene transfer between bacteria. *Nat Rev Microbiol.* 2005;3(9):711-721. doi: 10.1038/nr-micro1234.
51. Johnsborg O, Eldholm V, Havarstein LS. Natural genetic transformation: prevalence, mechanisms and function. *Res Microbiol.* 2007;158(10):767-778. doi: 10.1016/j.resmic.2007.09.004.
52. Cohan FM, Roberts MS, King EC. The Potential for Genetic Exchange by Transformation within a Natural Population of *Bacillus Subtilis*. *Evolution.* 1991;45(6):1393-1421. doi: 10.1111/j.1558-5646.1991.tb02644.x.
53. Slager J, Kjos M, Attaiech L, Veening JW. Antibiotic-induced replication stress triggers bacterial competence by increasing gene dosage near the origin. *Cell.* 2014;157(2):395-406. doi: 10.1016/j.cell.2014.01.068.
54. Lorenz MG, Wackernagel W. Bacterial gene transfer by natural genetic transformation in the environment. *Microbiol Rev.* 1994;58(3):563-602.
55. Boyd EF, Hill CW, Rich SM, Hartl DL. Mosaic structure of plasmids from natural populations of *Escherichia coli*. *Genetics.* 1996;143(3):1091-1100.
56. Wilkins BM, Chilly PM, Thomas AT, Pocklington MJ. Distribution of restriction enzyme recognition sequences on broad host range plasmid RP4: molecular and evolutionary implications. *J Mol Biol.* 1996;258(3):447-456. doi: 10.1006/jmbi.1996.0261.
57. Becker EC, Meyer RJ. Acquisition of resistance genes by the IncQ plasmid R1162 is limited by its high copy number and lack of a partitioning mechanism. *J Bacteriol.* 1997;179(18):5947-5950. doi: 10.1128/jb.179.18.5947-5950.1997.
58. Dubey GP, Ben-Yehuda S. Intercellular nanotubes mediate bacterial communication. *Cell.* 2011;144(4):590-600. doi: 10.1016/j.cell.2011.01.015.
59. Silver L, Chandler M, de la Tour EB, Caro L. Origin and direction of replication of the drug resistance plasmid R100.1 and of a resistance transfer factor derivative in synchronized cultures. *J Bacteriol.* 1977;131(3):929-942.

60. Davanger M, Evensen A. Role of the Pericorneal Papillary Structure in Renewal of Corneal Epithelium. *Nature*. 1971;229(5286):560-561. doi: 10.1038/229560a0.
61. Livermore DM. Antibiotic resistance in staphylococci. *Int J Antimicrob Agents*. 2000;16:3-10. doi: 10.1016/S0924-8579(00)00299-5.
62. Davies J, Davies D. Origins and evolution of antibiotic resistance. *Microbiol Mol Biol Rev*. 2010;74(3):417-33. doi: 10.1128/MMBR.00016-10.
63. Darmon E, Leach DR. Bacterial genome instability. *Microbiol Mol Biol Rev*. 2014;78(1):1-39. doi: 10.1128/MMBR.00035-13.
64. Toleman MA, Bennett PM, Walsh TR. ISCR elements: novel gene-capturing systems of the 21st century? *Microbiol Mol Biol Rev*. 2006;70(2):296-316. doi: 10.1128/MMBR.00048-05.
65. Kaushik M, Kumar S, Kapoor RK, et al. Integrins in Enterobacteriaceae: diversity, distribution and epidemiology. *Int J Antimicrob Agents*. 2018;51(2):167-176. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2017.10.004.
66. Escudero JA, Loot C, Nivina A, Mazel D. The Integron: Adaptation On Demand. *Microbiol Spectr*. 2015;3(2): MDNA3-0019-2014. doi: 10.1128/microbiolspec.MDNA3-0019-2014.
67. Boucher Y, Labbate M, Koenig JE, Stokes HW. Integrins: mobilizable platforms that promote genetic diversity in bacteria. *Trends Microbiol*. 2007;15(7):301-9. doi: 10.1016/j.tim.2007.05.004.
68. Guerin E, Cambray G, Sanchez-Alberola N, et al. The SOS response controls integron recombination. *Science*. 2009;324(5930):1034. doi: 10.1126/science.1172914.
69. Baharoglu Z, Krin E, Mazel D. Connecting environment and genome plasticity in the characterization of transformation-induced SOS regulation and carbon catabolite control of the *Vibrio cholerae* integron integrase. *J Bacteriol*. 2012;194(7):1659-1667. doi: 10.1128/JB.05982-11.
70. Juhas M, van der Meer JR, Gaillard M, et al. Genomic islands: tools of bacterial horizontal gene transfer and evolution. *FEMS Microbiology Reviews*. 2009;33(2):376-393. doi: 10.1111/j.1574-6976.2008.00136.x.
71. Llosa M, Gomis-Ruth FX, Coll M, Cruz Fdl. Bacterial conjugation: a two-step mechanism for DNA transport. *Mol Microbiol*. 2002;45(1):1-8. doi: 10.1046/j.1365-2958.2002.03014.x.
72. Delavat F, Miyazaki R, Carraro N, et al. The hidden life of integrative and conjugative elements. *FEMS Microbiol Rev*. 2017;41(4):512-537. doi: 10.1093/femsre/flux008.
73. Magiorakos AP, Srinivasan A, Carey RB, et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clin Microbiol Infect*. 2012;18(3):268-281. doi: 10.1111/j.1469-0691.2011.03570.x.
74. Caro-Quintero A, Konstantinidis KT. Inter-phylum HGT has shaped the metabolism of many mesophilic and anaerobic bacteria. *ISME J*. 2015;9(4):958-967. doi: 10.1038/ismej.2014.193.
75. Munita JM, Arias CA. Mechanisms of Antibiotic Resistance. *Microbiol Spectr*. 2016;4(2). doi: 10.1128/microbiolspec.VMBF-0016-2015.

✪ Информация об авторах

**Ольга Михайловна Землянко** — младший научный сотрудник, кафедра генетики и биотехнологии, биологический факультет, Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург; Санкт-Петербургский научный центр РАН, Санкт-Петербург. E-mail: olga\_zemlyanko@mail.ru.

**Татьяна Михайловна Рогоза** — старший преподаватель, кафедра генетики и биотехнологии, биологический факультет, Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург; Санкт-Петербургский филиал Института общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Санкт-Петербург. E-mail: taniuxa@bk.ru.

**Галина Анатольевна Журавлева** — д-р биол. наук, профессор, кафедра генетики и биотехнологии, биологический факультет, Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург; лаборатория биологии амилоидов, Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург. E-mail: zhouravleva@rambler.ru.

✪ Information about the authors

**Olga M. Zemlyanko** — Junior Researcher, Department of Genetics and Biotechnology, Saint Petersburg State University, Saint Petersburg, Russia; Saint Petersburg Scientific Center Russian Academy of Sciences, Saint Petersburg, Russia. E-mail: olga\_zemlyanko@mail.ru.

**Tatyana M. Rogoza** — Senior Lecturer, Department of Genetics and Biotechnology, Saint Petersburg State University, Saint Petersburg, Russia; Saint Petersburg Branch of Vavilov Institute of General Genetics, Russian Academy of Sciences. Saint Petersburg, Russia. E-mail: taniuxa@bk.ru.

**Galina A. Zhouravleva** — Sci. Doctor, Professor, Department of Genetics and Biotechnology, Saint Petersburg State University, Saint Petersburg, Russia; Laboratory of Amyloid Biology, Saint Petersburg State University, Saint Petersburg, Russia. E-mail: zhouravleva@rambler.ru.