

ЭКОЛОГИЯ ПРИРОДНЫХ СИСТЕМ КЛОНИРОВАНИЯ И ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ БАКТЕРИЙ



А.П. Соломенный,
кандидат биологических наук,
старший научный сотрудник,
Институт экологии и генетики
микроорганизмов УрО РАН



А.И. Саралов,
доктор биологических наук,
заведующий лабораторией
водной микробиологии,
Институт экологии и генетики
микроорганизмов УрО РАН

Молекулярно-генетические исследования (поддержанные Программой Президиума РАН и грантами РФФИ-Урал) впервые показали, что в современных высокотехнологичных медицинских стационарах Российской Федерации происходит укоренение интегрон-позитивных бактерий – возбудителей инфекции. Проблемные устойчивые к антибиотикам штаммы могут рекрутироваться из природной среды, на что указывают данные сравнительного геномного анализа. В лаборатории водной микробиологии ИЭГМ УрО РАН разрабатывается методология детального изучения интегрон-позитивных бактерий 1-го класса, особенно мутаций, влияющих на лекарственную устойчивость микроорганизмов в среде обитания человека. Одной из наиболее удобных моделей изучения генетических модификаций являются, по-видимому, грамотрицательные бактерии рода *Acinetobacter*.

Многие бактерии приспособлены к жизни в водоемах разного типа и различной степени загрязненности, т.е. являются полисапробными организмами. Они играют важнейшую роль в работе очистных сооружений и других биотехнологических процессах. В лаборатории водной микробиологии ИЭГМ УрО РАН за 20 лет исследований накоплен массив данных по физиолого-биохимическим свойствам бактерий, обитающих в водной среде.

Биологические свойства микроорганизмов сейчас изучаются с использованием молекулярно-генетических методов и аппаратуры для их реализации. Оказалось, что потенциальные возбудители инфекций человека могут быть рекрутированы из природного или техногенного ре-

зервуара привычных водных бактерий, среди которых значимая часть обладает устойчивостью к антимикробным соединениям. Ряд специалистов придерживается оригинальной гипотезы, что «для любой бактерии гораздо выгоднее быть резистентной, чем вирулентной». Действительно, устойчивость исследованной выборки поразительна как в относительных, так и абсолютных величинах. В природных условиях (*in situ*) обнаруживаются гены устойчивости, которые еще крайне редки у прошедших многолетнюю селекцию госпитальных возбудителей [3].

В числе носителей генов сопротивляемости к антибиотикам у грамотрицательных (ацинетобактер, кишечная и синегнойная палочки, клебсиелла) и грамполо-

жительных бактерий (стафилококки) выделяются особые подвижные элементы – интегроны. Открытие интегронов в роли природных векторов клонирования и экспрессии генов произошло лишь двадцать пять лет назад [5]. Особенности функционирования такой системы удобнее всего показать на примере знакомых всем устройств для проигрывания аудиокассет. Какая бы полезная информация ни была на кассете записана, сама по себе она «молчит». Мы способны прослушать ее лишь при наличии механизма воспроизведения закодированной информации. Причем уровень экспрессии генной кассеты в интегрене – способность инактивировать антибиотик (что сравнимо с громкостью звучания аудиокассеты) – определяется оригинальной короткой последовательностью нуклеотидов (промотором). Также совсем не важно, где мы прослушиваем записи, в Европе или, например, в Азии – лишь бы был подходящим их формат, а главное – найден способ доставки. Мобильность генные кассеты обеспечивают себе «сами», а подвижность интегронов в микробном мире поддерживается плазмидным и транспозонным «транспортом».

В последнее время нами показано, что не менее 15 % грамотрицательных возбудителей госпитальной инфекции в российских медицинских стационарах являются интегрон-позитивными. Генетически близкие интегроны циркулируют в популяциях, разделенных географически (таблица). Так, ретроспективный поиск, касающийся структуры интегрона, кодирующего устойчивость к аминогликозид-

ным антибиотикам, показал, что эпидемический штамм бактерии *Acinetobacter baumannii* с искомым интегроном наблюдали в одном из стационаров г. Ньюкасла (Великобритания) еще в 1989 году. Появление родственного штамма вскоре (в сентябре 1991 года) было зарегистрировано в ожоговом стационаре чешской столицы Праги, а в последующем он укоренился во многих других европейских медицинских центрах, в том числе российских. В декабре 2009 года нами совместно с эпидемиологами Санкт-Петербурга удалось провести быстрый анализ обсемененности схожими резистентными штаммами пермских ожоговых больных, поступивших в тяжелом состоянии в НИИ скорой помощи им. Джанелидзе. Надеемся, что налаженная система мониторинга позволит клиницистам выбрать наиболее оптимальные методы инфекционного контроля в современных высокотехнологичных медицинских учреждениях, например, в ожоговых, кардиохирургических и перинатальных центрах [1].

Удается прояснить и некоторые особенности эволюции генных кассет в связке с элементами их экспрессии – промоторами. Так, устойчивость даже к синтетическим антимикробным средствам (сульфамидам и триметоприму) широко представлена в природной среде и зачастую опосредуется только интегронами [2]. Недавно мы выяснили [4], что ген *dfpA5*, выявленный у пермского штамма *Acinetobacter*, на 99,8% аналогичен интегронному гену кишечной палочки, выделенной от варана, обитающего в девственном тропическом лесу (рис. 1). В то

Список штаммов *A. baumannii*, содержащих интегрон 1-го класса с единообразным блоком генных кассет размером ~2500 пар нуклеотидов

Эпидемиологические данные	Дата анализа, год
Испания, госпитальный изолят	2000
Италия (Неаполь), штамм в ОРИТ*	2000-2001
Чехия (девять городов), многие штаммы в ОРИТ и хирургических отделениях	2000-2001
Австралия (Сидней), ОРИТ**	2001
Россия (Санкт-Петербург), ожоговое ОРИТ	2003
Греция (Афины), ОРИТ	2003
Великобритания, ОРИТ, также штамм в госпиталях армии США	2003-2004
Ирландия, ветеринарная клиника	2004
Россия (Краснодар), ОРИТ	2005-2006

Примечание:

*ОРИТ – отделение реанимации и интенсивной терапии. ***Acinetobacter* spp.

Собственные данные выделены **жирным шрифтом**.



Рис. 1. Один из представителей варановых (род *Varanus*), в кишечнике которых обитают интегрон-позитивные бактерии (фото junglemoments.com)

же время у сульфамид-устойчивых штаммов энтеробактерий в составе микрофлоры кишечника медоносной пчелы, пчелиной обножки-пыльцы и растительного материала показана мутационная изменчивость последовательности слабого («дикий тип») промотора (рис. 2). У изо-

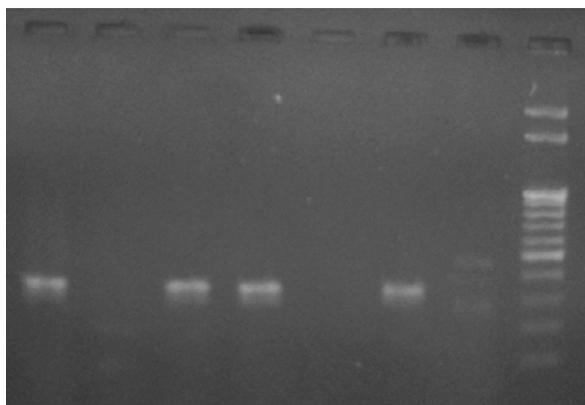


Рис. 2. Электрофореграмма участков ДНК, где находится промотор интегрона 1-го класса. Амплификация проведена методом полимеразной цепной реакции, и полученные последовательности пригодны для автоматического секвенирования

лятов *Klebsiella oxytoca* амплифицированы гораздо более активные гибридные промоторы. Считаем, что регуляторные генетические модификации напрямую

могут привести к развитию множественной лекарственной устойчивости бактерий-хозяев.

По результатам многолетних исследований на сайте Института экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения РАН размещена Web-страница, посвященная проблеме рекомбинационной геномики интегронов (<http://www.iegm.ru/lab/aqua/napr/integron.html>). Это единственный подобного рода материал в сети Интернет на русском языке, полезный для специалистов медико-биологического профиля и студентов. Таким образом, существенный научный приоритет ИЭГМ УрО РАН в изучении интегронов присутствует как в области экспериментальных и обзорно-теоретических работ, так и в области их информационного обеспечения. Эти работы поддерживаются Программой Президиума РАН «Молекулярная и клеточная биология» и грантами РФФИ-Урал. В целом же, исследования в области сравнительного геномного и мутационного анализа продолжают исторические традиции, ведь Уральский регион – один из форпостов отечественной генетики.

Библиографический список

1. Яфаев Р.Х., Гончаров А.Е., Соломенный А.П. [и др.] // Информ. письмо Федерального агентства по здравоохранению и соцразвитию РФ. – СПб., – 2005. – 16 с.
2. Alonso H., Gready J.E. // Trends Microbiol. – 2006. – Vol. 14. – P. 236–242.
3. Guardabassi L. [et al.] // Antimicrob. Agents Chemother. – 2004. – Vol. 48. – P. 4915–4918.
4. Solomennyi A., Saralov A. // Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health. – 2010. – Vol. 41. – P. 436–441.
5. Stokes H.W., Hall R.M. // Mol. Microbiol. – 1989. – Vol. 3. – P. 1669–1683.