ОБЗОР

© Т. С. ИЛЬИНА, 2012

УДК 575.826:577.216.9:579.253

Т. С. Ильина

МОБИЛЬНЫЕ ISCR-ЭЛЕМЕНТЫ: СТРУКТУРА, ФУНКЦИИ И РОЛЬ В СОЗДАНИИ, НАРАЩИВАНИИ И РАСПРОСТРАНЕНИИ БЛОКОВ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ГЕНОВ МНОЖЕСТВЕННОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ К АНТИБИОТИКАМ

ФГБУ НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Н. Ф. Гамалеи Минздравсоцразвития России, Москва

В обзоре рассмотрены данные литературы о недавно открытом способе горизонтального распространения бактериальных генов на примере генов лекарственной резистентности, характерном для атипичных инсерционных последовательностей ISCR. Механизм транспозиции этих элементов, включающий репликацию по типу "катящегося кольца", образование автономных не реплицирующихся кольцевых структур и гомологичную рекомбинацию, обеспечивает мобилизацию любого участка прилегающей ДНК. ISCR-элементы представляют более мощную систему распространения генов, чем транспозоны и интегроны, и способствуют быстрому появлению целых групп мобильных генов, включая гены устойчивости патогенных бактерий к антибиотикам. Рассмотрены данные о структурной организации и функциях ISCR-элементов, их сходстве с группой IS91-подобных элементов и отличии от нее, их роли в создании, наращивании и распространении блоков генов, кодирующих множественную резистентность к антибиотикам, их роли в эволюции бактериальных и плазмидных геномов.

Ключевые слова: *распространение генов резистентности к антибиотикам, атипичные IS-элементы — ISCR, горизонтальный перенос генов, эволюция бактерий*

Введение

Широкое использование секвенирования бактериальных геномов, плазмид и бактериофагов и возможность проведения сравнительного анализа нуклеотидных последовательностей полных геномов или их отдельных участков способствуют быстрому прогрессу исследований в области молекулярной генетики. В частности, в молекулярной генетике бактерий появилась возможность решать вопросы, связанные с эволюцией бактерий, механизмами их быстрой адаптивной изменчивости, созданием, происхождением и способами распространения блоков из неродственных для бактерий генов, их наращиванием. Особенно заметные успехи достигнуты в изучении механизмов распространения бактериальных генов, ответственных за появление бактерий, устойчивых к таким лекарственным препаратам, как широко применяемые в медицине антибиотики. Это определяется чрезвычайно большой значимостью антибиотиков при использовании их в медицинской практике и высокой селективностью признаков антибиотикорезистентности, способствующей проведению исследований.

Наряду с расширяющимся со временем спектром используемых природных и синтетических антибиотиков повсеместно регистрируется появление множественной лекарственной устойчивости (multiple drug resistance — MDR) и ее угрожающее распространение среди патогенных бактерий разных видов и родов.

Гены лекарственной устойчивости распространяются с помощью систем, включающих сайтспецифичную и гомологичную рекомбинации и генетические структуры, такие как плазмиды, инсерционные последовательности (IS-элементы), транспозоны (Tn-элементы), интегроны с их генными кассетами. Кроме того, в этом процессе участвуют и другие сложно организованные модульные структуры — интегрирующие конъюгативные и мобилизуемые элементы (ICE и IME соответственно), геномные острова. Эти системы участвуют в переносе генов как в пределах одной молекулы ДНК, так и между разными молекулами (хромосомная—плазмидная, хромосомная—фаговая), находящимися в одной клетке, способными в дальнейшем обеспечить межклеточное распространение генов посредством конъюгации, трансформации или трансдукции.

Наиболее активными в межклеточном переносе и распространении чужеродных генов среди бактерий разных таксономических групп являются бактериальные плазмиды, особенно конъюгативные, способные осуществлять не только свой собственный перенос из одних клеток в другие, но и мобилизовать перенос неконъюгативных плазмид. Обычно плазмиды несут широкое разнообразие генов, помогающих клеткам бактерий выживать в создающихся определенных условиях, например в присутствии антибиотиков или солей тяжелых металлов, или обеспечивать их проникновение и существование внутри инфицируемых организмов. Появление таких генов в плазмидах в большинстве случаев связывали с мобильными элементами — транспозонами и интегронами, способными включать кассетные гены.

Большинство транспозонов несут в своем составе гены резистентности к антибиотикам. Некоторые из них, такие как Tn5, Tn4001, Tn21, содержат несколько генов резистентности, а если в их состав входит интегрон (например, в Tn21), число таких генов может возрастать за счет последовательного включения ряда кассетных генов, обеспечивающих множественную резистентность к антибиотикам.

Интегроны способны включать в один и тот же сайт интеграции несколько кассетных генов резистентности, экспрессирующихся с промотора интегрона (своего промотора кассетные гены обычно не имеют), и, кроме того, иногда они содержат гены резистентности, не имеющие кассетной организации. Каким образом они попадают в интегрон, какое-то время оставалось загадкой. Сами интегроны не являются мобильными, их распространение обычно связывают с транспозонами или плазмидами.

Сравнительно недавно стало очевидно, что в создании блоков генов, включая гены резистентности к ан-

тибиотикам, в составе плазмид и других генетических элементов принимает участие по крайней мере еще одна система рекомбинации. Об этом свидетельствует появление в последнее десятилетие все большего количества работ, связанных с выделением и изучением клинических штаммов самых разных патогенных бактерий, отличающихся устойчивостью ко многим антибиотикам, таким как бета-лактамазы классов A, C, D широкого спектра активности, металло-бета-лактамаза (MBL), квинолоны, триметоприм, хлорамфеникол, аминогликозиды, тетрациклин, флорфеникол, макролиды и др. Удивительным было то, что гены резистентности к целому ряду антибиотиков в этих штаммах локализованы в одном участке хромосомы или плазмиды в виде отдельных блоков. Механизм появления и распространения таких блоков стал понятен после открытия особых последовательностей, CR (common regions), сцепленных с этими группами генов [82]. Найденные первоначально в составе двух интегронов класса 1, они оказались родственными, способными независимо транспозироваться с помощью механизма, включающего репликацию по типу "катящегося кольца" (rolling circle — RC). При таком способе транспозиции CR-последовательности могли осуществлять перемещение не только самих себя, но и прилегающих к их терминальному концу последовательностей ДНК, часто представленных генами резистентности к антибиотикам. В результате следующих друг за другом актов транспозиции ряды таких генов могут увеличиваться, создавая большие блоки способных к перемещениям генов.

Позднее были получены данные о том, что CR-элементы связаны не только с генами устойчивости к антибиотикам. Они были найдены у многочисленных грамотрицательных бактерий в штаммах клинического происхождения, а также у некоторых представителей грамположительных бактерий, выделенных в различных странах и континентах. CR-элементы обнаружены в составе как хромосом, так и плазмид, сцепленных с самыми разными генами. Они участвуют в образовании геномных островов патогенности сложной организации и некоторых из известных интегративных конъюгативных элементов бактерий (типа SXT холерного вибриона), обеспечивая появление в этих структурах генов множественной лекарственной устойчивости и, возможно, других генов [75, 82, 85].

Механизм транспозиции CR-элементов обеспечивает способность мобилизовать любой участок прилегающей ДНК. На основании изучения их свойств и анализа накопленных в литературе данных исследователи, активно занимающиеся этой проблемой [82, 85], пришли к выводу, что CR представляют более мощную систему распространения генов, чем интегроны, и являются ответственными за быстрое появление и распространение целых групп новых генов, включая гены, контролирующие устойчивость патогенных бактерий к антибиотикам.

В представленном обзоре будут рассмотрены данные литературы о структурной организации и функциях CR-элементов, их сходстве с атипичной группой IS91-подобных элементов, сходстве и различиях известных CR-элементов между собой и с IS-элементами бактерий, их роли в создании, наращивании и горизонтальном распространении блоков генов, кодирующих множественную резистентность к антибиотикам.

Обнаружение CR-элементов в составе интегронов класса 1

Среди бактерий, принадлежащих к семейству Enterobacteriaceae и псевдомонадам, перенос генов резистентности к антибиотикам обусловлен главным образом плазмидами широкого круга хозяев, несущими транспозоны [25]. Многие гены резистентности в транспозонах представлены мобильными генными кассетами, являющимися частью интегронов [34]. Описано 4 класса интегронов на основании данных о сходстве кодируемых ими интеграз, причем большинство из них принадлежит к классу 1 интегронов, и этот тип был найден у многих представителей семейства Enterobacteriaceae, включая *Escherichia coli*, *Citrobacter* spp., *Enterobacter* spp., *Klebsiella* spp., *Proteus* spp. и *Salmonella* spp.

Интегроны — это природные системы клонирования и экспрессии генов, которые способны улавливать с помощью сайтспецифической рекомбинации гены, имеющие организацию генных кассет, и обеспечивать их активное функционирование [70, 71]. Они не являются трансмиссивными генетическими структурами и распространяются с помощью мобильных элементов [3, 23, 24, 80]. В некоторых штаммах, отличающихся множественной резистентностью, интегроны содержат несколько генов резистентности (часто 2—3, иногда до 8), благодаря чему они получили название интегронов множественной лекарственной резистентности, MRI (multiple resistance integrons).

Интегроны класса 1 содержат 2 консервативных сегмента — 5'-CS и 3'-CS. В 5'-CS-области локализованы ген intI интегразы, промотор Pc, обеспечивающий экспрессию встроенных кассетных генов, и attI-сайт интеграции, в который с помощью сайтспецифической рекомбинации включаются генные кассеты. Каждая кассета представляет собой замкнутую в кольцо мобильную нереплицирующуюся структуру, содержащую 1 ген и прилегающую к нему последовательность, выполняющую роль рекомбинационного сайта (59 base element, 59 be, или attC) [47, 59, 72]. При встраивании кассеты в attI-сайт интегрона последовательность 59 be располагается рядом с кассетным геном и отделяет его от следующей встроенной кассеты.

В 3'-CS-области интегрона, отделенной от 5'-CS-области рядом внедренных кассет, расположены гены антибиотикорезистентности и ORF, не имеющие кассетной организации. Обычно интегроны класса 1 содержат только одну копию 3'-CS [13]. Однако 2 интегрона этого класса, In6 и In7, отличаются наличием частичной дупликации 3'-CS-области, которая отделена от исходной 3'-CS гомологичными последовательностями ДНК размером 2154 п. о. и некассетными генами резистентности к антибиотикам [83]. В интегроне In6 эта последовательность сцеплена с геном, кодирующим устойчивость к хлорамфениколу (catAII), тогда как в интегроне In7 она сцеплена с геном резистентности к триметоприму (dfrA10). Интегроны были найдены в составе двух разных плазмид, pSa и pDG0100, принадлежащих к разным группам совместимости [IncW и IncC], но сходство между

ними свидетельствовало об их общем происхождении. Поиск аналогичных последовательностей в банке генов привел к обнаружению в составе плазмиды RSF1010 укороченной структуры, проявляющей высокую степень гомологии с последовательностями, найденными в интегронах In6 и In7. Эта структура оказалась сцепленной с геном резистентности к сульфаниламидам. Позднее подобные структуры были найдены в составе разных интегронов и плазмид, в хромосомах бактерий разных видов и родов, и это послужило основанием для присвоения им названия "общие области", или CR [78, 82, 83]. Однако в 90-е годы прошлого века открытие CR-элементов не привлекло большого внимания ученых. Новые данные до 2000 г. накапливались медленно, но в последнее десятилетие появилось много работ о структурной организации этих элементов, их мобильной природе и способности активно участвовать в горизонтальном переносе генов, особенно в распространении генов, ответственных за множественную резистентность к антибиотикам [8, 9, 68, 73, 82, 83, 85, 87].

CR-элементы — необычные инсерционные элементы, родственные IS91

Обнаруженная в составе интегронов In6 и In7 CR-последовательность содержит в своем составе открытую рамку считывания Orf513, кодирующую продукт из 513 аминокислотных остатков [60, 82, 83]. Сравнение с аминокислотными последовательностями известных белков показало, что продукт Orf513 имеет некоторую степень родства с транспозазами инсерционных последовательностей IS91, IS801 и IS1294, объединяемых в одно семейство. Идентичность аминокислотного состава была низкой, но в продукте CR-элементов явно присутствовали некоторые аминокислотные мотивы транспозиционных белков [41, 81], что указывало на то, что он мог выполнять функцию белка транспозазы.

Инсерционные последовательности семейства IS91 являются необычными IS-элементами, отличающимися от типичных IS-элементов рядом характеристик: 1. Концевые последовательности элементов IS91-семейства не содержат инвертированные повторы [43, 82], различаются между собой и выполняют разные функции [41, 81, 82]. Один конец выполняет функцию сайта начала репликации (oriIS), другой — сайта терминации репликации (terIS). 2. Элементы IS91-семейства специфически внедряются в 3'-конец последовательности мишени, представленной тетрануклеотидами 5'-CTTG или 5'-GTTC. 3. При внедрении в мишень они не образуют прямых дупликаций последовательностей мишени. 4. Механизм транспозиции IS91-подобных элементов отличается от механизмов транспозиции типичных IS и включает несколько этапов — репликацию по типу RC, образование нереплицирующейся автономной замкнутой кольцевой структуры и последующую гомологичную рекомбинацию для осуществления заключительного акта транспозиции [42, 81]. Белки транспозиции этих элементов не содержат DDE-мотивы стандартных транспозаз, их активность зависит от тирозина (Tyr249 и Tyr253), и они родственны Rep-белкам стафилококковых плазмид и белку репликации бактериофага φX174. Другим отличием этих белков является их активность в транс-положении. Известно, что транспозазы типичных IS-элементов предпочтительно действуют в цис-положении [43].

Последовательность oriIS состоит из нуклеотидов 5'-GxTTTTxAAATTCCTAT-3' и расположена на расстоянии примерно 300 п. о. от терминальных концов генов транспозаз IS91 и IS1294 и 179 п. о. от транспозазного гена IS801. Для транспозиции IS91 абсолютно необходимыми являются последовательность oriIS и тетрануклеотид 5'-CTTG или 5'-GTTC, сцепленный с oriIS [55].

Последовательность terIS представлена 25 или 26 п. о. и содержит внутренний совершенный прерванный инвертированный повтор из 6 п. н. Делеция terIS или ее неправильное узнавание ведут к одноконцевой RC-транспозиции, в процессе которой могут транспозироваться фрагменты разной длины, фланкированные в одном конце ori, а в другом — любой из доступных последовательностей GTTC или CTTG хозяина. Другими словами, при такой транспозиции обеспечивается возможность мобилизации последовательностей, сцепленных с одной копией IS91 [42].

IS91-элемент был найден первоначально в составе альфа-гемолитических плазмид *Escherichia coli* рядом с геном hly [93], и последующие исследования показали, что IS-элементы, принадлежащие к этому семейству, участвуют преимущественно в распространении генов, связанных с патогенностью [42].

Проведенный сравнительный анализ CR-последовательности интегрона In6 с использованием базы данных о нуклеотидных последовательностях прокариот позволил идентифицировать не только родство CR с IS91, но и найти многие другие CR-последовательности с разными уровнями гомологии между собой, составившие разные подгруппы CR-элементов.

Структурная организация CR-элементов и элементов IS91-семейства имеет большое сходство. CR-элементы так же, как и IS91, не содержат концевые инвертированные повторы, а имеющиеся концевые последовательности различаются между собой нуклеотидным составом и функциями. В 3'-конце CR1 (такое название получили первые CR, открытые в In6 и In7) на расстоянии 240—250 п. о. от Orf513 находится концевая последовательность, отличающаяся лишь несколькими нуклеотидами от oriIS IS91. Это дало основание заключить, что она является ori RC-репликации CR-элемента [41, 55, 81, 82]. Вместо тетрануклеотида, сцепленного у IS91 с oriIS, CR содержит нуклеотидную пару GA на конце [82].

Последовательности terIS CR-элементов не определены достаточно точно из-за сложности определения места слияния с нуклеотидной последовательностью хозяйской ДНК. Однако в случае CR2-элемента заметные различия между 4 независимо выделенными вариантами позволили идентифицировать их вероятные 5'-концы, находящиеся на расстоянии примерно 120 п. о. от старта гена транспозазы CR-элемента. Сравнительный анализ 5'-концевых последовательностей CR2 и terIS IS91 показал, что предполагаемая последовательность ter CR2 имеет короткий прерванный инвертированный повтор из 4 п. о. по сравнению с 6 п. о. terIS91 [82].

Обнаруженное сходство CR-элементов и элементов IS91-семейства в структурной организации и функци-

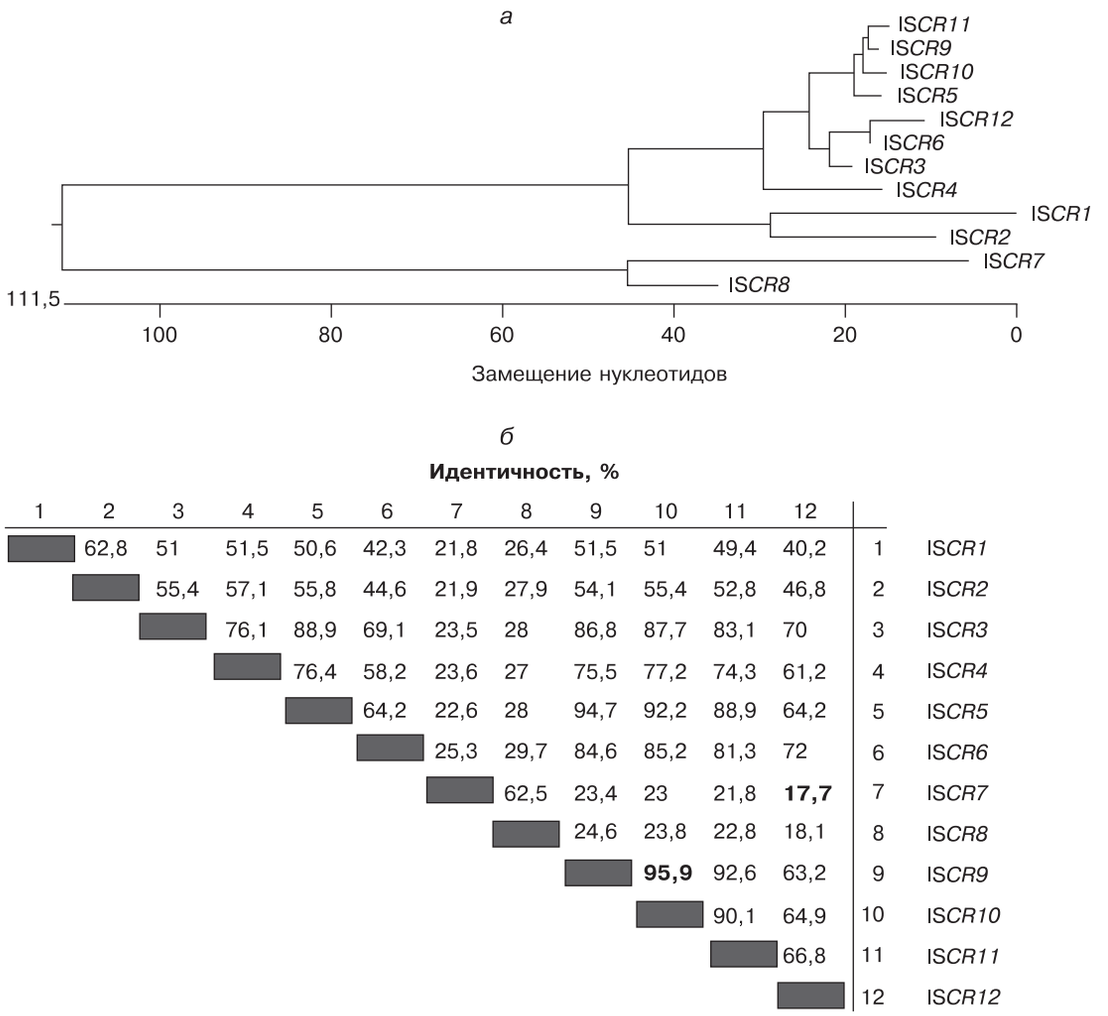


Рис.1. Филогенетическое древо (*а*) и уровень идентичности нуклеотидных последовательностей (*б*) ряда известных ISCR-элементов [82].

ях кодируемых этими элементами белков дало основание отнести CR-элементы к IS91-подобным и назвать их ISCR-элементами [82]. По мере выделения и идентификации различных ISCR им присваивался очередной порядковый номер — ISCR1, ISCR2, ISCR3 и т. д. В настоящее время известны 23 подгруппы ISCR-элементов. В подгруппу объединены близкородственные или идентичные элементы, выделенные из разных источников, часто сцепленные с разными генами резистентности. Уровни гомологии между представителями разных подгрупп показаны на рис. 1.

Каждый ISCR-элемент содержит 1 ген, кодирующий белок с предполагаемой функцией транспозазы. Сравнение аминокислотных последовательностей транспозазных белков разных подгрупп ISCR-элементов (ISCR1—ISCR5) показало, что различия между ними могут составлять от 53 до 95% [82]. Однако внутри основных мотивов сохраняются ключевые консервативные аминокислотные остатки, аналогичные существенным для транспозиции IS91 и родственных с ним элементов. Исключением является замена в последовательностях ISCR1, ISCR2 и ISCR4 тирозинового остатка (Tyr249) на аргинин, а в ISCR3 — на лизин. В случае IS91 Tyr249 и Tyr253 являются ключевыми аминокислотными остатками в RC-транспозиции, и замена одного из них у ISCR-элементов без ее нарушения может свидетельствовать о различиях в механизмах RC-транспозиции. Возможно, такое допущение находит подтверждение в том, что внедрения ISCR в отличие от канонических IS91, IS801 и IS1294 не являются сайтспецифичными [43, 54, 84].

Разные ISCR-элементы варьируют по составу G + C (см. таблицу), что свидетельствует об их разном происхождении.

Процентное содержание G + C-оснований в ISCR-элементах

ISCR-элемент	G + C-состав, %
ISCR1	54
ISCR2	59,6
ISCR3	68,7
ISCR4	69
ISCR5	69,3
ISCR6	68,0
ISCR7	65,7
ISCR8	62,7
ISCR9	62
ISCR10	62

Примечание. Процентное содержание G + C рассчитано для полных последовательностей ISCR1-, ISCR2-, ISCR3-, ISCR4-, ISCR5- и ISCR8-элементов и для неполных последовательностей ISCR6, ISCR7-, ISCR9-, и ISCR10- [82].

На основании выявленных различий в степени идентичности кодируемых белков и в G + C-составе ISCR разделены на несколько групп, каждая из которых включает наиболее близкородственные элементы [84, 85]. Все описанные ISCR-элементы найдены в непосредственном соседстве с горизонтально приобретенными генами, среди которых часто обнаруживаются гены резистентности к антибиотикам и другим антимикробным препаратам [15, 82]. В каждом случае прилегающие к ISCR области оказывались уникальными по протяженности и последовательностям, содержащим различные наборы генов резистентности к антибиотикам. Исключением явилась группа, включающая ISCR8 и родственные ему ISCR22 и ISCR23, связанные с генами деградации ароматических соединений [75]. Ниже мы рассмотрим данные о некоторых представителях различных групп ISCR-элементов.

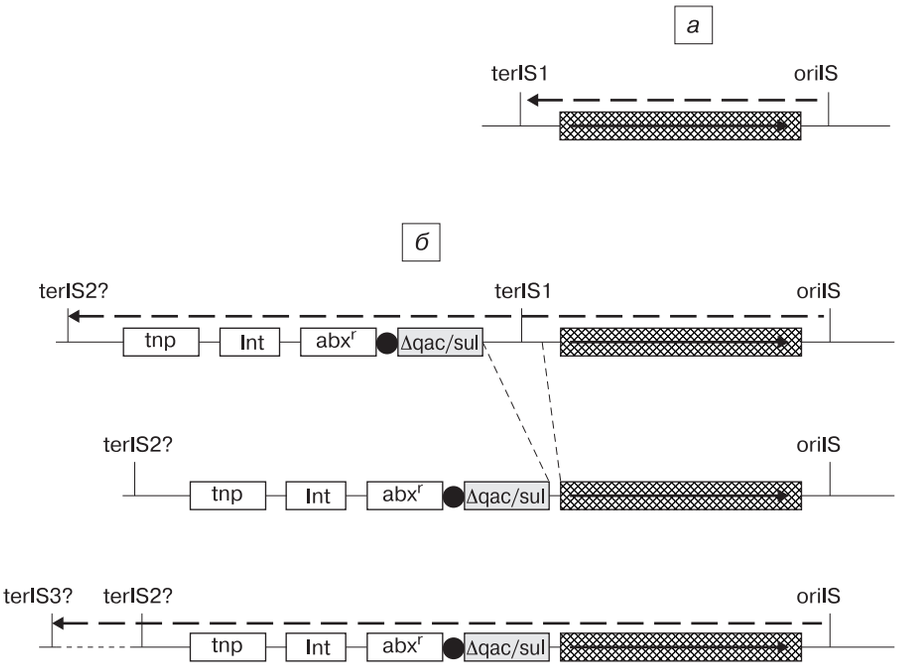


Рис. 2. Мобилизация сложных интегронов класса 1 с помощью ISCR-элемента.

а — oriIS и terIS — сайты инициации и терминации репликативной транспозиции ISCR1-элемента соответственно. Сплошная горизонтальная стрелка указывает направление транскрипции, прерывистая — направление и начало репликации;

б — делеция небольшого сегмента ДНК, включающего 3'-конец интегрона и 5'-конец ISCR1-элемента, вызвала укорочение последовательности гена sul и утрату последовательности terIS1. В результате ISCR1 при транспозиции способен мобилизовать весь интегрон или часть его, включая кассетные гены резистентности (abx). Черным кружком показан сайт 59be кассетного гена интегрона. Сайты terIS2 и terIS3 — предполагаемые вторичные терминирующие репликацию последовательности внутри или вне интегрона, сходные с terIS1, обеспечивающие разные длины транспозируемых сегментов ДНК (модифицировано по [82]).

Группа ISCR1-элементов

ISCR1-элементы отличаются от представителей других групп тем, что в большинстве случаев местом их локализации являются комплексные интегроны класса 1, содержащие дупликацию 3'-CS-области с одной укороченной ее копией. Сам элемент ISCR, обнаруженный рядом с этой копией, также имел меньший размер по сравнению с IS91 и другими ISCR-элементами, но сохранил функционирующие транспозазный ген и последовательность oriIS (рис. 2). По-видимому, в какой-то момент делеция привела к утрате части 3'-CS-области и части ISCR1, включая terIS и последовательность между ними [83], и распространение среди бактерий получил именно этот элемент. В результате серии вторичных транспозиций ISCR1 вместе с прилегающими последовательностями интегрона разной протяженности, включающими кассетные и некассетные гены, мог транспозироваться в другие генетические структуры. Необходимыми этапами таких транспозиций являются образование замкнутых кольцевых структур и участие гомологичной рекомбинации, включающей кольцевую структуру в другой интегрон класса 1 или соответствующую гомологичную последовательность [83]. Доказательства таких последовательных транспозиций с захватами новых генов резистентности получены при обнаружении ISCR1-элементов в хромосомах, плазмидах, геномных островах, конъюгативных интегрирующихся элементах бактерий, принадлежащих к разным видам и родам [82]. Поскольку ISCR1-элемент обычно связан с интегронами класса 1 и содержит делецию terIS-последовательности, чаще всего вместе с ним транспозируются гены резистентности интегрона вместе с другими его последовательностями, и именно он является причиной появления сложно организованных интегронов класса 1 и распространения этих интегронов среди бактерий с помощью мобильных генетических элементов (рис.3). С ISCR1-элементами связаны разные гены резистентности к антибиотикам — гены устойчивости к триметоприму (помимо In7, обнаружены в 5 других сложных интегронах класса 1); ген, кодирующий резистентность к квинолону , вместе с группой из нескольких бета-лактамазных генов, обнаруженных на разных плазмидах [90];гены резистентности к аминогликозидам [39, 40, 44, 45, 92]; гены различных классов бета-лактамаз [9, 53, 64, 74] широкого спектра, выявленные у разных представителей грамотрицательных и некоторых видов грамположительных бактерий. Очень важно, что ISCR1-элемент содержит в своем составе промоторную последовательность PCR1-1, которая обеспечивает экспрессию неродственных генов резистентности [67]. Один и тот же промотор ISCR1 активен в *Enterobacteriaceae* и штамме *Acinetobacter baumannii* AYE, что было показано при определении экспрессии генов qnrA в *K. pneumoniae* K149, bla CTX-M-9 в *E. coli* B36 и *K. pneumoniae* KP40C, dfr10 в *A. baumannii* AYE.

ISCR2-элемент

ISCR2 впервые обнаружен в составе интегративного конъюгативного элемента SXT холерного вибриона, кодирующего устойчивость к ряду антибиотиков — сульфаметоксазолу, триметоприму, хлорамфениколу, флорфениколу и стрептомицину. Гены резистентности, встроенные в SXT в виде сложной

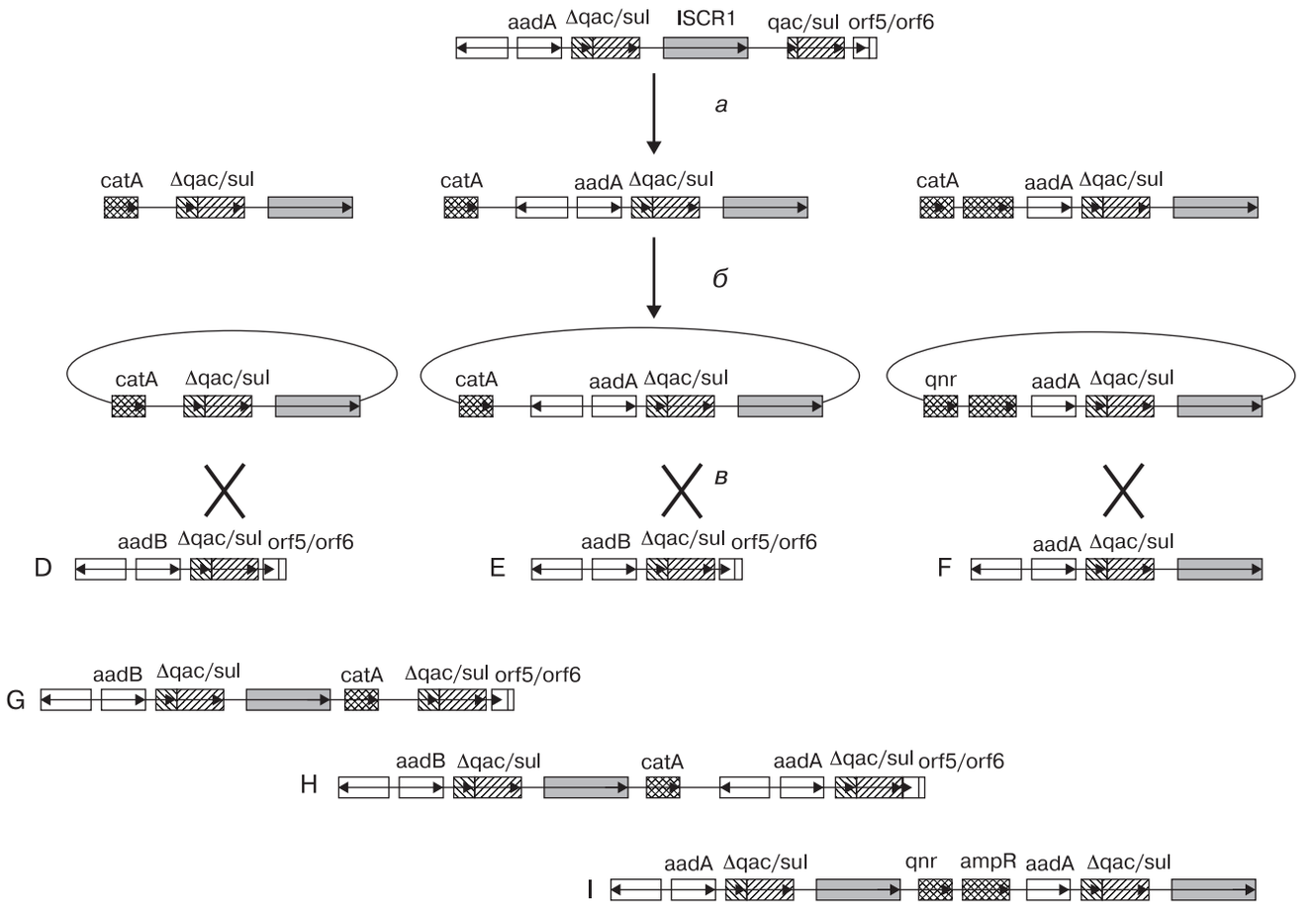


Рис.3. Модель ISCR1-опосредованного конструирования сложных интегронов класса 1.

а — неточная репликация ISCR1-элемента, встроенного в интегрон, порождает транспозируемые интермедиаты разной длины;
б — образуются кольцевые структуры этих интермедиатов;
в — они включаются посредством гомологичной рекомбинации в другие "нормальные" интегроны класса 1 (D, E, F), в результате чего образуются сложно организованные интегроны (G, H, I) [82].

транспозоноподобной структуры, были приобретены этим элементом недавно, и ISCR2, вероятно, участвовал в ее образовании [11, 48].

ISCR2 также обнаружен в составе разных плазмид. Он найден тесно сцепленным с геном sul2 плазмиды RSF1010 [69], с плазмидными генами устойчивости к флорфениколу, floR, *E. coli* [4, 22, 63], геном устойчивости к триметоприму, dfr18 [11, 48, 63]. Он был обнаружен в *Pseudomonas aeruginosa,* сцепленном с геном металло-бета-лактамазы blaIMP-1, и в штаммах *Acinetobacter* разных видов, сцепленным с геном VEB-1a типа бета-лактамазы, получившим широкое распространение в разных частях света в последнее десятилетие [63]. В изученных штаммах кассетный ген blaVEB-1, вероятно, был мобилизован ISCR2-элементом непосредственно от предшественника. Однако данные о G + C-составе гена blaVEB-1a (31,3%) и ISCR2 (59,5%) свидетельствуют об их разном происхождении.

Группа ISCR3-элементов

Эта группа включает несколько элементов — ISCR3, ISCR4, ISCR5, ISCR14 и ISCR16, имеющих одинаковый G + C-состав (68—69%) и довольно высокий процент гомологии между транспозазными генами этих элементов [84].

Элемент ISCR3, первоначально идентифицированный по транспозазному гену (55 и 57% идентичности с транспозазами ISCR1 и ISCR2 соответственно), был обнаружен в составе острова патогенности SGI1 сальмонеллы. SGI1 содержит в одном из своих концов модуль резистентности размером около 14 т. п. н., в котором найдены гены floR и tetR, расположенные между двумя интегронами класса 1. В разных странах выделены разные варианты этого острова, отличающиеся друг от друга в основном содержанием генов резистентности и присутствием или отсутствием CR-элементов. ISCR3 — наиболее часто встречающийся элемент в SGI1 и его вариантах. В некоторых вариантах острова обнаружен также ISCR1 [82, 84].

ISCR3 найден также сцепленным с геном 16S rRNA метилазы в клиническом штамме *S. marcescens* (rmtB) [8]. Этот ген придает высокие уровни устойчивости к разным аминогликозидам, включая канамицин, тобрамицин, амикацин, арбекацин, гентамицин, сизомицин и изепамицин. Вероятно, он был мобилизован в S. marcescens с участием ISCR3.

ISCR4 и ISCR5 связаны с металло-бета-лактамазными генами blaSPM-1 и blaOXA-45 соответственно. Ген blaSPM-1 был обнаружен в составе плазмиды штамма *Pseudomonas aeruginosa*, продуцирующего SPM-1. Вблизи стартовой последовательности этого

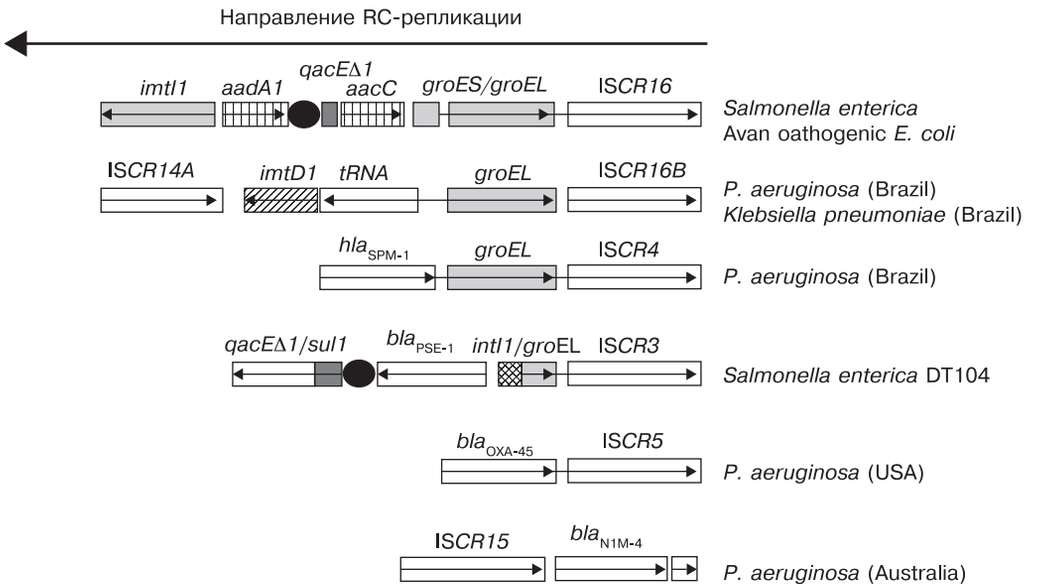


Рис.4. ISCR-элементы, входящие в группу ISCR3, и прилегающие к ним участки ДНК.

Большинство членов ISCR3-группы рядом с последовательностями terIS содержат полные или частичные последовательности генов groEL/groES, имеющие высокую степень гомологии с groEL-генами Xanthomonas spp. К ним примыкают разные гены различного происхождения, свидетельствующие о перемещениях этих ISCR-элементов.

Черными кружками изображены 59be-сайты генных кассет, стрелки внутри прямоугольников показывают направления транскрипции генов, сверху большая стрелка указывает направление RC-репликации [85].

гена была идентифицирована открытая рамка считывания (orf495) с разной достаточно высокой степенью идентичности известным транспозазным генам ISCR-элементов. Новый ISCR-элемент получил название ISCR4. О его происхождении от псевдомонад позволяли судить данные о сходстве их G + C-состава (70%), в то время как GC-состав гена blaSPM-1 (48%) свидетельствовал о его чужеродности.

Ген blaOXA-45 был обнаружен в штамме *Pseudomonas aeruginosa* 07-406 между неидентичными повторами нового ISCR5-элемента, который, вероятно, был ответствен за приобретение этого гена. Примечательно, что при анализе ISCR5-элемента оказалось, что он представляет собой гибрид двух элементов этой группы — ISCR3 и ISCR16 [89].

ISCR3-, ISCR4-, ISCR14- и ISCR16-элементы сцеплены в терминальном конце с полными или частично укороченными копиями генов groEL (рис. 4), проявляющими высокую степень идентичности (78%) генам groEL *Xanthomonas campestris* [84]. Эти данные свидетельствуют о том, что группа ISCR3-элементов ведет свое происхождение от древнего ISCR-элемента, который был в какое-то время сцепленным с groES-groEL-опероном *Xanthmonas*-подобного микроорганизма. В работе M. Toleman и T. Walsh [84] показано, что 4 ISCR-элемента этой группы сцеплены с последовательностями генов groEL разной длины. Например, ISCR16 сцеплен с полными копиями генов groEL и groES, прилегающими к терминальному концу элемента, а ISCR14, ISCR4 и ISCR3 — с 5'-укороченными копиями groEL-генов, утративших 189, 1260 и 1287 п. о. соответственно.

Все гены groEL сцеплены только с терминальными концами ISCR-элементов (см. рис. 4). Другой конец ISCR содержит oriIS, и репликативная транспозиция, протекающая от правого (oriIS) до левого (terIS) конца каждого элемента, способна в ряде случаев приводить к захвату части прилегающих последовательностей. У родственного элемента семейства IS91, IS1294, частота событий котранспозиции прилегающих последовательностей достигает 10% от числа транспозиций [81], и при последующих транспозициях могут мобилизоваться еще большие прилегающие участки, в результате чего накапливаются последовательности разного происхождения, сцепленные с terIS элемента. Анализ этих последовательностей помогает иногда проследить историю перемещений ISCR-элемента. Примером может служить элемент ISCR16, сцепленный с полными копиями генов groES, groEL [84], непосредственно прилегающими к терминальному концу элемента и высокогомологичными с теми же генами различных видов *Xanthomonas*. Рядом с этими генами находятся ген aacC, не имеющий кассетную организацию, затем небольшая часть гена qacE с делецией 110 п. о. и затем кассетный ген aadA1 и ген интегразы (см. рис.4). Предполагается, что сначала элемент ISCR16 находился в *Xanthomonas*-подобном организме, сцепленным с gro-генами, затем в результате транспозиции переместился вместе с этими генами в положение рядом с aacC-геном и qacE-геном с делецией и при последующей транспозиции — в другой интегрон с локализацией вблизи гена aadA1. В результате каждой последующей транспозиции с участием репликации по типу RC и гомологичной рекомбинации в каком-то проценте случаев происходит наращивание дополнительных последовательностей ДНК, способных к дальнейшим перемещениям и распространению среди бактерий.

Группа ISCR8-элементов

Хотя среди ISCR-элементов, описанных до настоящего времени, большинство связано с генами резистентности к антибиотикам, были обнаружены исключения в виде элементов ISCR8, ISCR22 и ISCR23, сцепленных с генами деградации ароматических сое-

динений [75, 76, 82]. Элемент ISCR8 был обнаружен в бактериях *Delftia acidovorans* MC1 рядом с генами rdpA и sdpA, кодирующими деградацию гербицида дихлорпропионата, в виде фланкирующей и перемежающейся последовательности. При неселективных условиях, т. е. в отсутствие гербицида, эти гены легко утрачивались. Одновременно уменьшалось и число копий ISCR8, что указывало на рекомбинацию между копиями элемента. Элементы ISCR8, ISCR22, ISCR23 различаются по длине и филогенетическому родству их транспозаз, последовательностям их oriIS, расстояниям от oriIS до их транспозазных генов и последовательностям этих промежуточных участков. Эти данные можно рассматривать как свидетельство того, что указанные элементы являются функциональными и потенциально активными ISCR-элементами.

Детальному изучению был подвергнут ISCR8, найденный у *Pseudomonas pseudoalcaligenes*. Транспозаза этого элемента содержит 515 а. о. Близкие по составу, но различающиеся размером, транспозазы найдены у *Acidovorax* spp. JS42 (526 и 538 а. о.) и отнесены к двум новым элементам ISCR8-группы, получившим обозначения ISCR22 и ISCR23. У всех трех элементов обнаружены последовательности, соответствующие oriIS. Они незначительно отличались друг от друга. Последовательность terIS была найдена только у ISCR8, у двух других элементов она не была обнаружена.

Элементы ISCR8-группы имеют широкий круг хозяев. Они найдены у грамотрицательных бактерий (alfa-, beta- и gamma-proteobacteria), а также у грамположительных бактерий. Спектр хозяев включает некоторые оппортунистические патогены разных родов. Они часто локализованы на плазмидах, но найдены также в хромосомах хозяев и обычно связаны с генами, не принадлежащими к коровой части генома. Описан случай, когда ISCR8 был идентифицирован в *K. pneumoniae* вблизи гена бета-лактамазы широкого спектра активности [61], однако неизвестно, была ли это полная или частичная копия элемента и был ли он активен.

Эволюционная значимость элементов этой группы оценивается высоко благодаря очень широкому кругу их хозяев, их участию в геномных перестройках и роли в адаптивных процессах их хозяев.

Участие ISCR в создании блоков генов резистентности к антибиотикам в интегративных конъюгативных элементах (ICE) и геномных островах

Помимо плазмид, транспозонов, интегронов и ISCR-элементов, в распространении генов лекарственной устойчивости принимают активное участие ряд других мобильных элементов, активно изучаемых в последние годы и объединяемых в группы интегративных конъюгативных элементов ICE [19, 20] и геномных островов [1, 77]. Интегративные конъюгативные элементы в отличие от плазмид не являются самореплицирующимися, но внедряются в хромосомы и стабильно передаются в поколениях. Они кодируют ферменты, ответственные за их внедрение, вырезание и конъюгативный перенос между клетками бактерий.

Геномные острова, первоначально открытые как переносчики генов вирулентности бактерий, также играют важную роль в распространении генов резистентности. Способ их перемещений пока не совсем ясен. Предполагают, что в этом процессе участвуют механизмы, обеспечивающие их мобилизацию.

Одним из примеров существования тесной связи между ICE и геномными островами является остров патогенности SGI1 сальмонелл, открытый благодаря межконтинентальному распространению множественно резистентного к антибиотикам (ампициллину, хлорамфениколу, стрептомицину и тетрациклину), а также к сульфаниламидам штамма *Salmonella typhimurium* фаготипа DT104 [30]. SGI1 классифицирован как IME, способный к интеграции и вырезанию, но нуждающийся в присутствии в клетке помощника (helper), функцию которого могут выполнять плазмиды группы IncA/C. Первоначально обнаруженный в штамме *S. typhimurium* DT104, недавно он был найден в штаммах разных сероваров *S.enterica* и *P. mirabilis* [31, 32]. Все гены резистентности этого острова находятся в одном модуле [16, 17] размером 14 т. п. н. Он содержит гены floR и tetR, заключенные между двумя интегронами класса 1. Один из интегронов несет кассетный ген aadA2, другой — кассету blaPSE-1. Все эти гены отличаются от обычно распространенных среди Enterobacteriaceae, и их происхождение пока не установлено. Обнаружены многочисленные варианты этого острова, образованные в результате актов гомологичной рекомбинации и транспозиций [57]. Среди них были идентифицированы варианты с дополнительными генами резистентности, кодирующими устойчивость к фторквинолонам, триметоприму, аминогликозидам [17]. Анализ последовательностей, составляющих модуль резистентности острова, показал наличие в нем частичной копии IS6100, а также присутствие ISCR-элементов ISCR3 и ISCR1. В некоторых вариантах эти последовательности были утрачены. Также найдены варианты, содержащие только один интегрон класса 1, и вариант SGI1, у которого была делетирована вся часть острова с генами резистентности, примыкающая к терминальному концу ISCR1-элемента, в результате чего он оказался сцепленным с хромосомными генами yieE и yieF [29]. Элемент ISCR3 локализован между двумя интегронами класса 1, однако найден вариант, у которого этот элемент найден в конце геномного острова примыкающим к терминальному концу интегрона класса 1. Возможно, это явилось следствием инверсии, вызванной IS6100, копии которого найдены на концах инвертированной области ДНК [82]. Приведенные данные убедительно свидетельствуют об участии элементов ISCR1 и ISCR3 по отдельности и совместно друг с другом и другими мобильными элементами в процессе образования геномного острова SGI1 и его вариантов и приобретении новых генов резистентности.

Другим поразительным примером появления множественной резистентности может служить патоген *Acinetobacter baumannii*, который до 1970 г. был нечувствителен ко многим антибиотикам, а позднее приобрел резистентность ко многим из них и в настоящее время является причиной большинства внутрибольничных инфекций [35, 46]. В клинических изолятах этого патогена были обнаружены геномный остров AbaR1 и его производные, состоящие из комбинаций транспозонов, инсерционных последовательностей

(IS) и 46 генов, кодирующих различные механизмы резистентности к антибиотикам и антимикробным препаратам. Все это было сконцентрировано в области из 86 т. п. н. в одном участке хромосомы.

Среди ICE наиболее хорошо изученным является генетический элемент SXT, обнаруженный в хромосоме штамма *Vibrio cholerae* серогруппы O139 [11]. Этот штамм получил распространение в Индии, заместив ранее функционирующий штамм *V. cholerae eltor*. Отличием этого штамма явилась его множественная резистентность к антибиотикам сульфаметоксазолу, триметоприму, хлорамфениколу, флорфениколу и стрептомицину. Гены резистентности в нем были локализованы в ранее неизвестном генетическом элементе, обозначенном SXT, интегрирующим в ген prfC в хромосоме вибриона и способном передаваться в другие клетки бактерий посредством конъюгации. В настоящее время он получил распространение и присутствует практически во всех клинических штаммах холерного вибриона [48], а также найден в хромосоме *Providencia alcalifaciens* [82]. С помощью конъюгации он может быть передан в другие штаммы грамотрицательных бактерий, включая *E. coli*.

В составе SXT гены резистентности содержатся в структуре, напоминающей сложный транспозон и внутри которой найден элемент ISCR2 рядом с геном dhfR18, кодирующим резистентность к триметоприму. Кроме полной копии этого элемента, имеются еще 2 укороченные его копии, локализованные рядом с геном резистентности к флорфениколу (floR) и генами резистентности к стрептомицину и сульфаниламидам. Эти данные свидетельствуют о том, что ISCR-элементы принимали участие в образовании модуля резистентности SXT при транспозициях и появлении его разных вариантов в результате индуцированных геномных перестроек.

Роль ISCR и других генетических элементов в эволюции плазмид

Бактериальные плазмиды — самореплицирующиеся, конъюгативные внехромосомные репликоны, выполняют ключевую роль в генетическом изменении микробных популяций. Наряду с резистентностью к антибиотикам они способствуют распространению самых разнообразных признаков — резистентности к ртути и другим тяжелым металлам, вирулентности, приспособляемости к разным условиям существования, метаболизму необычных соединений [12, 27, 37, 38, 50, 79].

Роль ISCR-элементов и других мобильных элементов в эволюции плазмид мы рассмотрим на примере плазмид группы несовместимости IncA/C с широким кругом хозяев, которые только недавно стали интенсивно изучаться на геномном уровне из-за их причастности к появлению и распространению множественной лекарственной резистентности среди патогенных бактерий кишечной группы человека и животных. Они были обнаружены в бактериях многих видов, включая *Aeromonas hydrophila* [7, 36], *Yersinia pestis* [91], *Photobacterium damselae* [49], *Klebsiella pneumoniae* [22], *Vibrio cholerae* [58], *Escherichia coli* [21], *Aeromonas salmonicida* [52] и *Salmonella enterica* [50].

В настоящее время секвенирован ряд плазмид группы IncA/C из изолятов *E. coli*, *S. enterica*, *V. cholerae*, *Y. pestis*, *Y. ruckeri*, *K. pneumoniae*, *P. damselae subsp. piscicida*. Идентифицировано множество вариантов этих плазмид, каждый из которых содержит уникальный набор мобильных генетических элементов внутри областей, представляющих "горячие точки" для интеграции генов резистентности и других вспомогательных функций.

Анализ полных последовательностей этих плазмид, выделенных из разных источников и в разных регионах, показал, что они имеют практически идентичные коры (backbone) [16, 18], за исключением вышеупомянутых добавочных областей. Среди генов, идентифицированных в составе добавочных областей, были гены, кодирующие устойчивость к тетрациклину (tetA), сульфонамидам (sul1, sul2), хлорамфениколу/ флорфениколу (floR), стрептомицину/ спектиномицину (aadA2) и бета-лактамазам расширенного спектра активности (blaCMY-2). В дополнение к этому набору недавно обнаружены штаммы, содержащие ген blaNDM-1 металло-бета-лактамазы с устойчивостью ко всем используемым в медицинской практике антибиотикам, связанный с плазмидой IncA/C [28].

Все гены резистентности, находящиеся в разных модулях, связаны с теми или другими мобильными генетическими элементами. Так, в составе модуля с генами floR-tetAR-strAB-sul2 некоторых плазмид этой группы обнаружены транспозон Tn21 и ISCR-элементы ISCR2 и ISCR16 [21], копии инсерционной последовательности IS26. Мобилизация и образование дупликаций генов бета-лактамазы опосредованы ISEcp1-подобными элементами, которые, как и ISCR, используют одноконцевую транспозицию и способны мобилизовать себя и сцепленные с ними гены [85, 88, 94]. В области интегрона класса 1 большинство секвенированных плазмид содержит ISCR16, сцепленный с генами groES [82, 83, 86].

Обобщая сказанное, следует подчеркнуть особую значимость плазмид IncA/C-группы, обусловленную тем, что они имеют широкий круг хозяев и содержат по меньшей мере три "горячие точки интеграции" дополнительных генетических модулей. Для их приобретения они используют множество способов, включая улавливание генных кассет с помощью интегронов, классическое IS-опосредованное приобретение генов с помощью IS26, привнесение разных генов в результате одноконцевых транспозиций элементов ISCR и ISEcp1 [33].

Следует указать, что подобные способы приобретения генов резистентности описаны и для других групп плазмид групп несовместимости IncW, IncP и IncN, также отличающихся широким кругом хозяев и непрерывно эволюционирующих за счет приобретения мобильных и мобилизуемых генетических элементов разного рода [65].

Заключение

Появление и распространение среди бактерий резистентности к антимикробным препаратам и антибиотикам наблюдали с самого начала их применения в медицинской и ветеринарной практике. Поскольку в середине XX столетия существовало мнение, что резистентность к тому или иному лечебному препарату может возникать только в результате мутации, обнаружение резистентности сразу к нескольким из

них считалось маловероятным. Особенно невероятным казалось приобретение множественной лекарственной резистентности. Однако уже после введения в практику нескольких антибиотиков начали обнаруживать клинические изоляты, устойчивые ко всем применяемым антибиотикам. Механизм их возникновения оставался непонятным до тех пор, пока не получили развитие молекулярно-биологические методы исследования плазмидных и хромосомных геномов бактерий, особенно после создания методов их секвенирования и начала широкого применения в исследовательских лабораториях. Было показано, что резистентность к большинству антимикробных препаратов возникает в результате горизонтального переноса — приобретения бактериями новых генов резистентности, происхождение которых часто остается неизвестным. Многие из них ведут свое начало от природных продуцентов антибиотиков, вырабатывающих эти вещества для собственной защиты от окружения [26, 51, 66]. С открытием мобильных генетических элементов — инсерционных последовательностей, транспозонов, интегронов — стало понятно, что существуют специфические системы распространения генов резистентности среди бактерий, включающие разного рода мобильные генетические элементы и рекомбинационные процессы — сайтспецифичную и гомологичную рекомбинации. Сформировались ли эти системы в недавнем прошлом или они существовали в природе до начала эры применения антибиотиков, оставалось долгое время неясным. Изучение древних штаммов бактерий, сохранившихся в многолетнемерзлых отложениях, проведенное С. З. Миндлин и соавт. [4—6, 56], показало, что среди них существуют штаммы, проявляющие множественную устойчивость. Детерминанты устойчивости древних штаммов высокогомологичны таковым современных клинических штаммов. Также были выявлены мобильные элементы (плазмиды, IS-элементы, транспозоны и интегроны с кассетными генами), участвующие в распространении генов резистентности среди древних штаммов и родственные современным мобильным элементам. В одной из плазмид древнего штамма *Psychrobacter maritimus* обнаружен элемент ISPpy1, обладающий способностью мобилизовать прилежащие к нему гены резистентности к стрептомицину и тетрациклину (strAB—tetR(H)) и перемещать их в плазмиды широкого круга хозяев за счет механизма одноконцевой транспозиции [6]. Этими свойствами он напоминает ISCR-элементы, хотя по другим характеристикам — наличию повторов из 49/50 п. о. на концах, способности образовывать транспозоны — он отличается от них. Атипичные IS-элементы, имеющие сходную с ISPpy1 организацию, были найдены и у современных бактерий. Так, описан ISPme1 [10], обнаруженный в штамме DM12 *Paracoccus methylutens*, одна копия которого способна мобилизовать прилегающие сегменты геномной ДНК. В результате образуются разнообразные транспозирующиеся элементы, различающиеся по длине (от 0,5 до 5 т. п. н.) и последовательностям ДНК. Другой пример — элемент ISEcp1B [62, 88, 94], который явился причиной распространения бета-лактамазных генов широкого спектра — blaCTX-M62, blaCMY, а также гена 16S рРНК метилтрансферазы, придающего устойчивость к высоким уровням различных аминогликозидов. Как и в случае древнего IS-элемента, он фланкирован несовершенными инвертированными повторами из 14 п. о., IRL и IRR. ДНК-фрагменты транспозируемых с его помощью структур, содержащих элемент ISEcp1 и мобилизуемые гены, на одном конце имели последовательность IRL, а на другом — IRR', сходную с IRR [88], т. е. в данных случаях имело место образование транспозонов.

Особенностью обсуждавшихся здесь ISCR-элементов является их способность перемещаться с помощью RC "неконтролируемой" транспозиции, оказавшейся мощным генетическим механизмом мобилизации практически любого гена из любого местоположения, что особенно наглядно продемонстрировано на примере распространения среди бактерий генов лекарственной резистентности.

Сведения об авторе

Ильина Тамилла Сергеевна — вед. науч. сотр. ФГБУ НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Н. Ф. Гамалеи Минздравсоцразвития России, д-р биол. наук, проф.; e-mail: tamilailina@yandex.ru.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Ильина Т. С., Романова Ю. М.* // Молекул. биол. — 2002. — Т. 36, № 2. — С. 228—239.
2. *Ильина Т. С.* // Молекул. генетика. — 2003. — № 4. — С. 3—10.
3. *Ильина Т. С.* // Генетика. — 2006. — Т. 42. — С. 1536—1546.
4. *Миндлин С. З., Соина В. С., Петрова М. А., Горленко Ж. М.* // Генетика. — 2008.- Т. 44. — С. 36—44.
5. *Петрова М. А., Горленко Ж. М., Соина В. С., Миндлин С. З.* // Генетика. — 2008. — Т. 44. — С. 1281—1286.
6. *Петрова М. А., Горленко Ж. М., Щербатова Н. А., Миндлин С. З.* // Генетика. — 2012. — Т. 48. — С. 324—332.
7. *Aoki T., Egusa S., Ogata Y., Watanabe T.* // J. Gen. Microbiol. — 1971. — Vol. 65. — P. 343—349.
8. *Arduino S. M., Roy P. H., Jacoby G. A.* et al. // Antimicrob. Agents Chemother. — 2002. — Vol. 46. — P. 2303—2306.
9. *Arduino S. M., Catabano M., Orman B. E.* et al. // Antimicrob. Agents Chemoher. — 2003. — Vol. 47. — P. 3945—3949.
10. *Bartosic D., Putirski M., Dziewit L.* et al. // J. Bacteriol. — 2008. — Vol. 190. — P. 3306—3313.
11. *Beaber J. W., Hochnut B., Waldor M. K.* // J. Bacteriol. — 2002. — Vol. 184. — P. 4259—4269.
12. *Bennett P. M.* // J. Pharmacol. —2008. — Vol. 153. — P. s347—s357.
13. *Bennett P. M.* // Meth. Mol. Biol. —2004. — Vol. 266. — P. 71—113.
14. *Blickwede M., Schwarz S.* // J. Antimicrob. Chemother. — 2004. — Vol. 53. — P. 58—64.
15. *Boerlin P., Reid-Smith R. S.* // Anim. Health Res. Rev. —2008. — Vol. 9. — P. 115—126.
16. *Boyd D., Peters G. A., Cloeckaert A.* et al. // J. Bacteriol. — 2001. — Vol. 183. — P. 5725—5732.
17. *Boyd D., Clockaert A., Chaslus-Dancle E., Mulvay M. R.* // Antimicrob. Agents Chemother. —2002. — Vol. 46, N 6. — P.1714—1722.
18. *Burland V., Shao Y., Perna N. T.* et al. // Nucl. Acids Res. —1998. — Vol. 26. — P. 4196—4294.
19. *Burrus V., Walder M. K.* // Res. Microbiol. — 2004. — Vol. 155. — P. 376—386.
20. *Burrus V., Pavlovic G., Decaris B., Guedon G.* // Mol. Microbiol. —2002. — Vol. 46. — P. 601—610.
21. *Call D. R., Singer R. S., Da Meng* et al. // Antimicrob. Agents Chemother. — 2010. — Vol. 54. — P. 590—596.
22. *Cloeckaert A., Baucheron S., Chaslus-Danela E.* // Antimicrob. Agents Chemother. — 2001. — Vol. 45. — P. 2381—2382.
23. *Collis C. M., Hall R. M.* // Mol. Microbiol. — 1992. — Vol. 6. — P. 2875—2885.
24. *Collis C. M., Grammaticopolos G., Briten J.* et al. // Mol. Microbiol. —1993. — Vol. 9. — P. 41—52.
25. *Davies J. E.* // Antibiotic resistance: origins, evolution, selection and spread / Eds D. J. Chadwick, J. Goode. — New York: J. Wiley and Sons, 1997. — P. 15—27.
26. *D`Costa V. M., Griffiths E., Wright G. D.* // Curr. Opin. Microbiol. — 2007. — Vol. 10. — P. 481—499.

27. *Debroy C., Sidhu M. S., Sarker U.* et al. // Plasmid. — 2010. — Vol. 63. — P. 53—60.
28. *Doi Y., Shibata N., Shibayama K.* et al. // Antimicrob. Agents Chemother. — 2002. — Vol. 46. — P. 2427—2434.
29. *Doublet B., Butaye P., Imberechts H.* et al. // Antimicrob. Agents Chemother. — 2004. — Vol. 48. — P. 2510—2517.
30. *Doublet B., Boyd D. A., Mulvey M. R., Cloeckaert A.* // Mol. Microbiol. — 2005. — Vol. 55. — P. 1911—1924.
31. *Doublet B., Poirel L., Praud K.* et al. // J. Antimicrob. Chemother. —2010. — Vol. 65. — P. 2260—2262.
32. *Doublet B., Schwarz S., Kehreberg C., Clocckaert A.* // Antimicrob. Agents Chemother. — 2005. — Vol. 49. — P. 2106.
33. *Fernandez-Alarcon C., Singer R. S., Johnson T. J.* // PLoS ONE. — 2011. — Vol. 6, N 8. — e23415.
34. *Fluit A. C., Schmitz F. J.* // Eur. J. Microbiol. Innfect. Dis. — 1999. — Vol. 18. — P. 761—770.
35. *Fournier P. E., Vellenet D., Barbe V.* et al. // PLoS Genet. — 2006. — Vol. 2. — e7.
36. *Fricke W. F., McDermott P. F., Mammel M. K.* et al. // Appl. Environ. Microbiol. — 2009. — Vol. 75. — P. 5963—5971.
37. *Fricke W. F., Welsh T. J., McDermott P. F.* et al. // J. Bacteriol. — 2009. — Vol. 191. — P. 4750—4757.
38. *Frost L. S., Leplac R., Summers A. O., Toussaint A.* // Nat. Rev. Microbiol. — 2005. — Vol. 3. — P. 722—732.
39. *Galimand M., Sabtcheva S., Courvalin P., Lambert T.* // Antimicrob. Agents Chemother. — 2005. —Vol. 49. — P. 2949—2953.
40. *Galimand M., Courvalin P., Lambert T.* // Antimicrob. Agents Chemother. — 2003. — Vol. 47. — P.2565—2571.
41. *Garcillian-Barcia M. P., Bernales I., Mendiola M. V., de la Cruz F.* // Mobile DNA II / Eds N. L. Craig et al.— Washington: ASM Press, 2002. — P. 891—904.
42. *Garcillian- Barcia M. P., de la Cruz F.* // FEMS Microbiol. Ecol. —2002. — Vol. 42. — P. 303—313.
43. *Garcillian-Barcia M. P., Bernales M., Mendiola M. V., de la Cruz F.* // Mol. Microbiol. — 2001. — Vol. 39. — P. 494—501.
44. *Gonzalez-Zorn B., Catalan A., Escudero J. A.* et al. // J. Antimicrob. Chemother. — 2005. — Vol. 56. — P. 583—585.
45. *Gonzalez-Zorn B., Teshager T., Casas M.* et al. // Emerg.Infect. Dis. — 2005. — Vol. 11. — P. 954—956.
46. *Gootz T. D.*// Crit. Rev. Immunol. — 2010. — Vol. 30. — P. 79—93.
47. *Hansson K., Sandstrom L., Pelletier A., Roy P. H.* // J. Bacteriol. — 2002. — Vol. 184. — P. 1712—1721.
48. *Hochnat B., Lotfi Y., Mazel D.* et al. // Antimicrob. Agents Chemother. — 2001. — Vol. 45. — P. 2991—3000.
49. *Kim M. J., Hirono I., Kurokawa K.* et al. // Antimicrob. Agents Chemother. — 2008. — Vol. 52. —P. 606—611.
50. *Lindsey R. L., Fedorka-Cray P. J., Frye J. G., Meinersmann R. J.* // Appl. Environ. Microbiol. — 2009. — Vol. 75. — P. 1908—1915.
51. *Martinez J. L.* // Science. — 2008. — Vol. 321. — P. 365—367.
52. *Mcintosh D., Canningham M., Ji B.* et al. // Antimicrob. Agents Chemother. — 2008. — Vol. 52. — P. 1221—1228.
53. *Melano R., Corso A., Peroni A.* et al. // J. Antimicrob. Chemother. — 2003. — Vol. 52. — P. 36—42.
54. *Mendiola M. V., de la Cruz F.* // Mol. Microbiol. — 1989. — Vol. 3. —P. 979—984.
55. *Mendiola M. V., Bernalis I., de la Cruz F.* // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 1994. — Vol. 91. — P. 1922—1926.
56. *Mindlin S., Petrova M., Gorlenko Zh.* et al. // New Permafrost and Glacier Res. Nova Science Publ. Inc.,Hauppauge, 2009. — P.89—105.
57. *Mulvey M. R., Boyd D. A., Olson A. B.* et al. // Microb. Infect. — 2006. — Vol.8. — P. 1915—1922.
58. *Pan J. C., Ye R., Wang H. Q.* et al. // Antimicrob. Agents Chemother. — 2008. — Vol. 52. — P. 3829—3836.
59. *Patridge S. R., Recchia G. D., Scaramuzzi C.* et al. // Microbiology. — 2000. — Vol. 146. — P. 2855—2864.
60. *Patridge S. R., Hall R. M.* // Antimicrob. Agents Chemother. — 2003. — Vol. 47. — P. 342—349.
61. *Papanicolaou G. A., Medeiros A. A., Jacoby G. A.* /// Antimicrob. Agents Chemother. — 1990. — Vol. 34. — P. 2200—2209.
62. *Poirel L., Lartigue M. E., Decousser J. W., Nordmann P.* // Antimicrob. Agents Chemother. — 2005. — Vol.49. — P. 447—450.
63. *Poirel L., Mugnier P. D., Toleman M. A.* et al. // Antimicrob. Agents Chemother. — 2009. — Vol. 53. — P. 4940—4943.
64. *Power P., Gallant M., Di Conza J.* et al. // J. Antimicrob. Chemother. — 2005. — Vol. 55. — P.461—465.
65. *Revilla C., Garcillian-Barcia M. P., Fernandes-Lopes R.* et al. // Antimicrob. Agents Chemother. — 2008. — Vol. 52. — P. 1472—1480.
66. *Riesenfield S. C., Goodman R. M., Handelsman J.* // Environ. Microbiol. — 2004. — Vol. 6. — P. 981—989.
67. *Rodriguez-Martinez J.-M., Poirel L., Canton R., Nordmann P.* // Antimicrob. Agents Chemother. — 2006. —Vol. 50. — P. 2544—2546.
68. *Rodriguez-Martinez J.-M., Poirel L., Nordmann P.* // Antimicrob. Agents Chemother. — 2009. — Vol. 53. — P. 4783—4788.
69. *Rodstrom P., Swedberg G.* // Antimicrob. Agents Chemother. — 1988. — Vol. 32. — P. 1684—1692.
70. *Rowe-Magnus D. A., Mazel D.* // Curr. Opin. Microbiol. — 1999. — Vol. 2 — P. 3015—3027.
71. *Rowe-Magnus D. A., Mazel D.* // Curr. Opin. Microbiol. — 2001. — Vol. 4. — P. 565—569.
72. *Rowe-Magnus D. A., Mazel D.* // J. Med. Microbiol. — 2002. — Vol. 292. — P. 115—125.
73. *Sabato M., Navarro F., Miro E.* et al. // Antimicrob. Agents Chmother. — 2002. — Vol. 46. — P. 2656—2661.
74. *Sabtcheva S.,Galimand M., Gerbaud G.* et al. // Antimicrob. Agents Chemother. — 2003. — Vol. 47. — P. 1584—1588.
75. *Schleinitz K. M., Vallaeys T., Kleinsteuber S.* // Antimicrob. Agents Chemother. — 2010. — Vol. 54. — P. 4321—4328.
76. *Schleinitz K. M., Kleinsteuber S., Vallaeys T., Babel W.* // Appl. Environ. Microbiol. — 2004. — Vol. 70. — P. 5357—5365.
77. *Schmidt H., Hensel M.* // Clin. Microbiol. Rev. — 2004. — Vol. 17. — P. 14—56.
78. *Scholz P., Haring V., Wittmannliebold C.* et al. // Gene. — 1989. — Vol.75. — P. 271—288.
79. *Shintani M., Takahashi Y., Tokumaru H.* et al. // Environ. Microbiol. — 2010. — Vol. 12. — P. 1413—1426.
80. *Stokes H. W., Hall R. M.* // Mol. Microbiol. — 1983. — Vol. 3. — P. 1669—1683.
81. *Tavakoli N., Comanducci A., Dodd H. M.* et al. // Plasmid. — 2000. — Vol. 44. — P. 66—84.
82. *Toleman M. A., Bennett P. M., Walsh T. R.* // Microbiol. Mol. Biol. Rev. — 2006. — Vol. 70. — P. 296—316.
83. *Toleman M. A., Bennett P. M., Walsh T. R.* // J. Antimicrob. Chemother. — 2006. — Vol. 58. — P. 1—6.
84. *Toleman M. A., Walsh T. R.* // Antimicrob. Agents Chemother. — 2008. — Vol. 52. — P. 3789—3791.
85. *Toleman M. A., Walsh T. R.* // FEMS Microbiol. Rev. — 2011. — Vol. 35. — P. 912—935.
86. *Toleman M. A., Walsh T. R.* // Antimicrob. Agents Chemother. — 2010. — Vol. 54. — P. 3534.
87. *Verdet C., Arlet G., Bernaud G.* et al. // Antimicrob. Agents Chemother. — 2000. — Vol. 44. — P.222—225.
88. *Wachino J., Yamana K., Kimura K.* et al. // Antimicrob. Agents Chemother. — 2006. — Vol. 50. — P. 3212—3215.
89. *Walsh T. R., Toleman M. A.* // Antimicrob. Agents Chemother. — 2009. — Vol. 53. — P. 1248—1251.
90. *Wang M. G., Tran J. H., Jacoby G. A.* et al. // Antimicrob. Agents Chemother. — 2003. — Vol. 47. — P. 2242—2248.
91. *Welsh T. J., Fricke W. F., McDermott P.* et al. // PLoS ONE. — 2007. — Vol. 2. — e309.
92. *Yan J., Wu J., Ko S.* et al. // J. Antimicrob. Chem. — 2004. — Vol. 54. — P. 1007—1012.
93. *Zabala J. C., Garcia-Lobo J. M., Diaz-Aroca E.* et al. // Mol. Gen. Genet. — 1984. — Vol. 197. — P. 90—97.
94. *Zong Z., Partridge S. R., Iredell J. R.* // Antimicrob. Agents Chemother. — 2010. — Vol.54. — P. 3039—3042.

Поступила 18.06.12

MOBILE ISCR ELEMENTS: STRUCTURE, FUNCTIONS, AND ROLE IN THE EMERGENCE, INCREASING AND SPREADING OF BLOCKS OF BACTERIAL GENES OF MULTIPLE ANTIBIOTIC RESISTANCE

T. S. Ilyina

Gamaleya Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Ministry of Health and Social Development of the Russian Federation, Moscow, Russia

The recently discovered method of horizontal distribution of bacterial genes with atypical ISCR sequences is reviewed using an example of drug resistance genes. The adjacent DNA segment mobilization is provided by the transposition of such elements, including rolling circle replication, formation of autonomous nonreplicable circular structures, and homological recombination. The gene distribution capacity with the ISCR elements is more significant than the capacity of transposons and integrons, thereby providing formation of groups of mobile genes, including antibiotic-resistance genes of pathogenic bacteria. The structure and functions of the ISCR elements were discussed together with their similarity and dissimilarity with the group of IS91-similar elements and their role in the emergence of blocks of bacterial genes encoding of multiple antibiotic resistance and their contribution to evolution of bacterial and plasmid genes.

K e y w o r d s: *distribution of antibiotic-resistance bacterial genes, atypical IS-elements — ISCR, horizontal distribution of bacterial genes, evolution of bacteria*