

УДК 577.2

МЕШАЮТ ЛИ МЕМБРАННЫЕ ПЕРЕНОСЧИКИ, ОБЕСПЕЧИВАЮЩИЕ МНОЖЕСТВЕННУЮ ЛЕКАРСТВЕННУЮ УСТОЙЧИВОСТЬ, ФУНКЦИОНИРОВАНИЮ КЛЕТКИ В НОРМАЛЬНЫХ УСЛОВИЯХ?

Обзор

© 2020 Д.А. Кнорре^{1,2*}, К.В. Галкина¹, Т.С. Широковских³,
А. Банерджи⁴, Р. Прасад⁴

¹ НИИ физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, 119991 Москва, Россия; электронная почта: knorre@belozersky.msu.ru

² Первый московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова, 119992 Москва, Россия

³ Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, факультет биоинженерии и биоинформатики, 119991 Москва, Россия

⁴ Amity Institute of Biotechnology and Amity Institute of Integrative Sciences and Health, Amity University Haryana, Amity Education Valley, Gurugram, 122413 India

Поступила в редакцию 03.07.2020

После доработки 25.08.2020

Принята к публикации 25.08.2020

Эукариотические клетки обладают множеством механизмов защиты от чужеродных соединений. В частности, клетки могут ограничивать проницаемость токсичных молекул через плазматическую мембрану (ПМ) или изолировать их в специализированных компартментах. Переносчики плазматической мембраны с широкой субстратной специфичностью обеспечивают клеткам множественную лекарственную устойчивость (МЛУ). Эти переносчики откачивают из клетки токсичные соединения, затрачивая при этом энергию гидролиза АТФ (ABC-переносчики) или энергию переноса протона (MFS-переносчики). Данный обзор посвящен обсуждению возможных издержек, возникающих при работе системы откачивания соединений из клетки, на примере дрожжей. Известно, что ABC-переносчики семейства PDR постоянно гидролизуют АТФ, даже если они не осуществляют транспорт субстрата через мембрану. Кроме того, некоторые МЛУ-переносчики обладают флиппазной активностью, позволяющей им транспортировать липиды из внутреннего во внешний слой плазматической мембраны. Таким образом, чрезмерная активность МЛУ-переносчиков может непреднамеренно изменять свойства плазматической мембраны. Также есть вероятность, что широкая субстратная специфичность ABC-переносчиков может приводить к откачиванию из клеток естественных метаболитических интермедиатов. У некоторых микроорганизмов транспорт факторов «чувства кворума» опосредован МЛУ-переносчиками; сверхэкспрессия этих переносчиков может нарушать координацию роста и размножения клеток. Чтобы снизить эти издержки в нормальных условиях, клетки сохраняют гены МЛУ-переносчиков в репрессированном состоянии и активируют их только при воздействии стресса. Использование подобных ограничений работы системы откачивания соединений из клетки является многообещающей стратегией противодействия патогенным грибам с МЛУ.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: множественная лекарственная устойчивость, дрожжи, ABC-переносчики, сигналинг.

DOI: 10.31857/S0320972520120088

ВВЕДЕНИЕ

Живые организмы защищаются от враждебной внешней среды на нескольких уровнях организации: начиная от репарации отдельных

Принятые сокращения: ABC – ATP-binding cassette; QS – quorum sensing; MDR – multiple drug resistance; MFS – multiple facilitator superfamily; SAGA – Spt-Ada-Gcn5 acetyltransferase; PDR – pleiotropic drug resistance; МЛУ – множественная лекарственная устойчивость.

* Адресат для корреспонденции.

молекул [1, 2] и заканчивая сложными поведенческими паттернами социальных животных [3]. Чужеродные токсичные соединения (ксенобиотики) из-за своего огромного разнообразия являются одной из самых сложных проблем для клеточных и организменных систем защиты от стресса. Так, к настоящему времени уже описаны более 1500 различных вторичных метаболитов грибов, многие из которых проявляют широкую (биоцидную) или узкую антимикробную активность [4, 5].

На клеточном уровне организации существует несколько дополняющих друг друга механизмов, которые защищают клетку от негативного воздействия ксенобиотиков: 1) абсорбция ксенобиотиков во внеклеточных компартментах, таких как внеклеточные везикулы, а также избирательная проницаемость плазматической мембраны может ограничивать накопление ксенобиотиков в цитоплазме [6]; 2) клетки могут изолировать токсичные соединения во внутриклеточных компартментах, например, в вакуолях [7] или липидных каплях [8]; 3) в клетках существует множество систем метаболической деградации токсичных молекул. Так, β -лактамазы разлагают антибиотики пенициллинового ряда и, тем самым, играют важную роль в устойчивости бактерий к лекарственным препаратам [9]. Еще одним примером могут служить ферменты семейства цитохрома *P450*, которые катализируют окисление различных органических соединений и, таким образом, могут способствовать устойчивости к токсинам [10]; 4) и, наконец, некоторые ABC- (ATP-binding cassette) или MFS-переносчики цитоплазматической мембраны обеспечивают откачивание ксенобиотиков из цитоплазмы в окружающую среду [11, 12]. В случае ABC-переносчиков выброс ксенобиотиков из клетки сопряжен с гидролизом АТФ, в то время как MFS-переносчики используют протон-движущую силу для транслокации ксенобиотиков (рис. 1, а). Важно отметить, что вышеописанные механизмы часто функционируют вместе. Так, например, у дрожжей *S. cerevisiae* изоляция противогрибковых препаратов в вакуоли опосредована активностью ABC-переносчика с широкой субстратной специфичностью Ybt1p, а его гомолог Mlt1p выполняет ту же функцию у дрожжей вида *Candida albicans* [7].

ABC- и MFS-переносчики с широкой субстратной специфичностью вносят значительный вклад в формирование системы множественной лекарственной устойчивости (МЛУ) — способности клеток противостоять вредоносному действию различных химических соединений [12, 13]. МЛУ снижает эффективность противоопухолевых препаратов [14] и лекарств, направленных на лечение инфекционных заболеваний [15], а также ограничивает применение некоторых соединений, таких как митохондриально-направленные антиоксиданты [16, 17]. В то же время высокий уровень экспрессии переносчиков с широкой субстратной специфичностью в отдельных клетках может иметь свои недостатки. Переносчики, обеспечивающие МЛУ (МЛУ-переносчики), могут избыточно нагружать клеточную энергетику, менять соотношения интер-

медиатов метаболизма, занимать место в плазматической мембране, необходимое для других переносчиков, а также мешать межклеточной коммуникации. Опубликованы результаты, по крайней мере, трех исследований, показывающих, что дрожжевые культуры с подавленной системой МЛУ достигают более высокой плотности клеток, чем штаммы дикого типа [18–20]. Мы также недавно показали, что клетки со сниженной экспрессией генов МЛУ обгоняют по скорости роста клетки дикого типа, если их выращивать на среде с несбраживаемым источником углерода в присутствии протонофора карбонилцианид-*n*-трифторметокси-фенилгидразона (FCCP) [21]. Кроме того, известно, что некоторые штаммы дрожжей с делециями генов, необязательных для роста в нормальных условиях, теряют способность к пролиферации при активации МЛУ. Так, например, экспрессия гена *PDR1+*, содержащего мутацию с усилением функции, вызывает летальный фенотип у штамма *S. cerevisiae* с делецией гена *GCN5*, кодирующего каталитическую субъединицу ADA и SAGA гистонацетилтрансферазных комплексов [22]. *PDR1* кодирует транскрипционный фактор, который активирует экспрессию генов основных ABC-переносчиков и, таким образом, обеспечивает дрожжевые клетки множественной лекарственной устойчивостью [23]. Вместе с тем, генетический скрининг на пекарских дрожжах показал, что повышенная экспрессия белков переносчиков, обеспечивающих МЛУ, может ингибировать рост дрожжей. Трансмембранный домен ABC-переносчиков (pfam00664) оказался перепредставлен среди фрагментов геномной ДНК, наличие которых токсично для клеток дрожжей [24]. Активация систем лекарственной устойчивости может снижать приспособленность клеток не только в случае грибов. Было показано, что в условиях ограниченных ресурсов малярийные плазмодии, чувствительные к ксенобиотикам, вытесняют своих обладающих лекарственной устойчивостью сородичей в организме хозяина [25].

В данном обзоре на примере пекарских дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* и патогенных видов дрожжей рода *Candida* обсуждается возможный «сопутствующий ущерб», связанный с высокой активностью ABC-переносчиков. МЛУ дрожжей обеспечивается ABC-переносчиками PDR семейства. Поэтому для многих генов МЛУ дрожжей используют аббревиатуру PDR. Дрожжевые клетки содержат множество PDR-переносчиков, которые обеспечивают им защиту от противогрибковых соединений (подробнее см. обзоры [26, 27]), кроме того, экспрессия этих PDR-переносчиков обычно повышена в клинических изо-

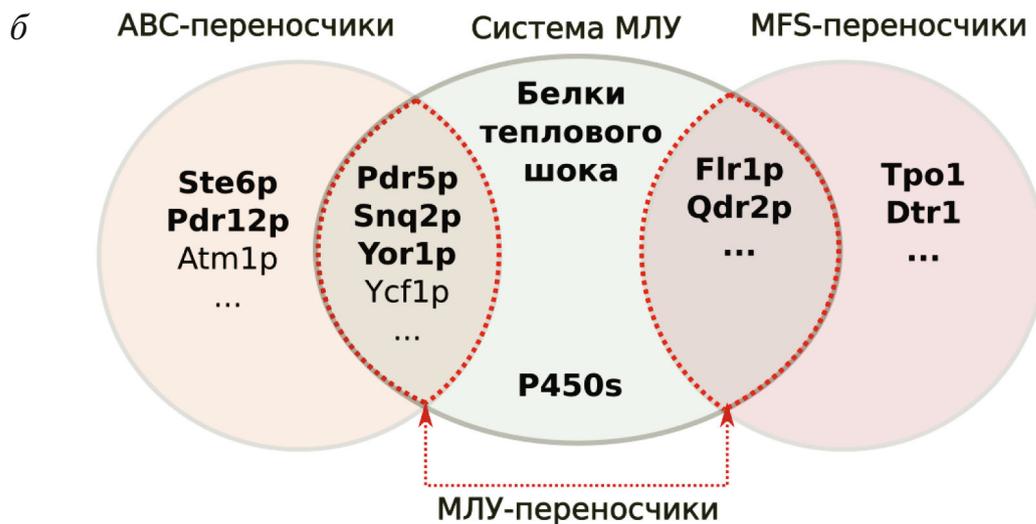
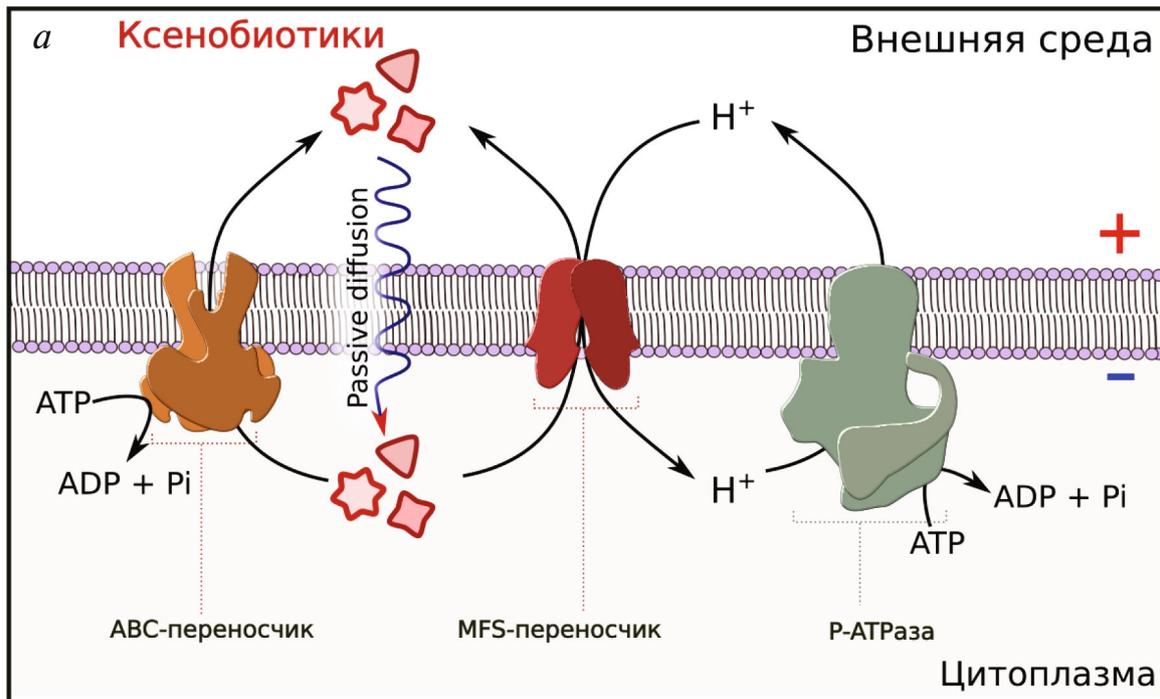


Рис. 1. ABC- и MFS- переносчики составляют систему откачивания ксенобиотиков из клетки. *a* – Откачивание переносчиками субстрата сопряжено с гидролизом АТФ (ABC-переносчики, слева) или с переносом протона в клетку (MFS-переносчики – в середине). АТФаза Р-типа Pma1p (справа) генерирует электрохимический потенциал на плазматической мембране дрожжевой клетки; *б* – диаграмма Венна иллюстрирует множество ABC- и MFS- переносчиков, являющихся частью системы множественной лекарственной устойчивости. Белки теплового шока и микросомальные цитохромы *P450* также могут обеспечивать устойчивость к химически различным токсинам. (С цветными вариантами рис. 1 и 2 можно ознакомиться в электронной версии статьи на сайте: <http://sciencejournals.ru/journal/biokhsm/>)

лятах патогенных грибов [28, 29]. В данном обзоре авторы ограничились рассмотрением работы мембранных транспортеров, несмотря на то, что множественная лекарственная устойчивость может обеспечиваться и с помощью других механизмов (рис. 1, б), таких как повышенная экспрессия белков теплового шока [30].

АКТИВНОСТЬ ABC-ПЕРЕНОСЧИКОВ СОЗДАЕТ ДОПОЛНИТЕЛЬНУЮ НАГРУЗКУ НА КЛЕТОЧНУЮ ЭНЕРГЕТИКУ

МЛУ-переносчики откачивают ксенобиотики из цитоплазмы в окружающую среду за счет гидролиза АТФ [31]. ABC-переносчики напря-

мую гидролизуют АТФ, в то время как MFS-переносчики используют мембранный электрохимический потенциал, генерируемый АТФ-гидролизующей плазматической мембранной Р-АТФазой Pma1p (рис. 1, а). Известно, что транспортируемые субстраты стимулируют АТФазную активность Р-гликопротеина — АВС-переносчика с широкой субстратной специфичностью многоклеточных животных [32]. В то же время АВС-переносчики, в частности, переносчики семейства PDR, могут осуществлять гидролиз АТФ, не связанный с транспортом субстрата [33–35]. По этой причине изолированные АВС-переносчики проявляют базовую АТФазную активность без добавления субстратов для транспорта [36]. АТФазная активность основного АВС-переносчика дрожжей Pdr5 остается неизменной или даже может быть заингибирована добавлением транспортных субстратов [36, 37] за немногими заметными исключениями [33, 38]. Учитывая, что K_m гидролиза АТФ (0,44–1,9 мМ АТФ) для белка Pdr5 находится в пределах физиологического диапазона концентраций АТФ [39, 40], Pdr5 может вносить значимый вклад в расход энергии неделящихся клеток (рис. 2, 1). Стоит, однако, отметить, что наличие постоянно активированной системы PDR-переносчиков может быть для клетки скорее преимуществом, нежели недостатком, так

как сохраняет ее белки-переносчики в функциональном состоянии, другими словами, такая клетка готова к откачиванию ксенобиотиков в любой момент [41].

Следует отметить, что базовая активность гидролиза АТФ была определена для изолированных переносчиков или переносчиков в составе выделенных мембранных везикул, но никогда не измерялась в интактных клетках. Поэтому, теоретически, в условиях *in vivo* могут существовать механизмы, предотвращающие потерю энергии. Более того, учитывая, что в условиях брожения дрожжевые клетки содержат ~10 000 молекул Pdr5p [42], а V_{max} гидролиза АТФ белком Pdr5 составляет 200 нмоль/(мин × мг белка) [40], интегральная скорость базового гидролиза АТФ Pdr5p равна ~4 нмоль/(мин × мл цитоплазмы клетки). Чтобы рассчитать эту скорость гидролиза АТФ, мы приняли объем дрожжевых клеток равным 65 мкм³ (что приблизительно соответствует диаметру клеток 5 мкм), а мол. массу Pdr5p — равной 170 кДа. Отметим, что данное расчетное значение скорости примерно на четыре порядка ниже, чем значение скорости метаболического синтеза АТФ при брожении дрожжевых клеток [43]. Отсюда следует, что в условиях экспоненциального роста влияние АТФ-гидролизующей активности Pdr5p на приспособленность дрожжевых клеток

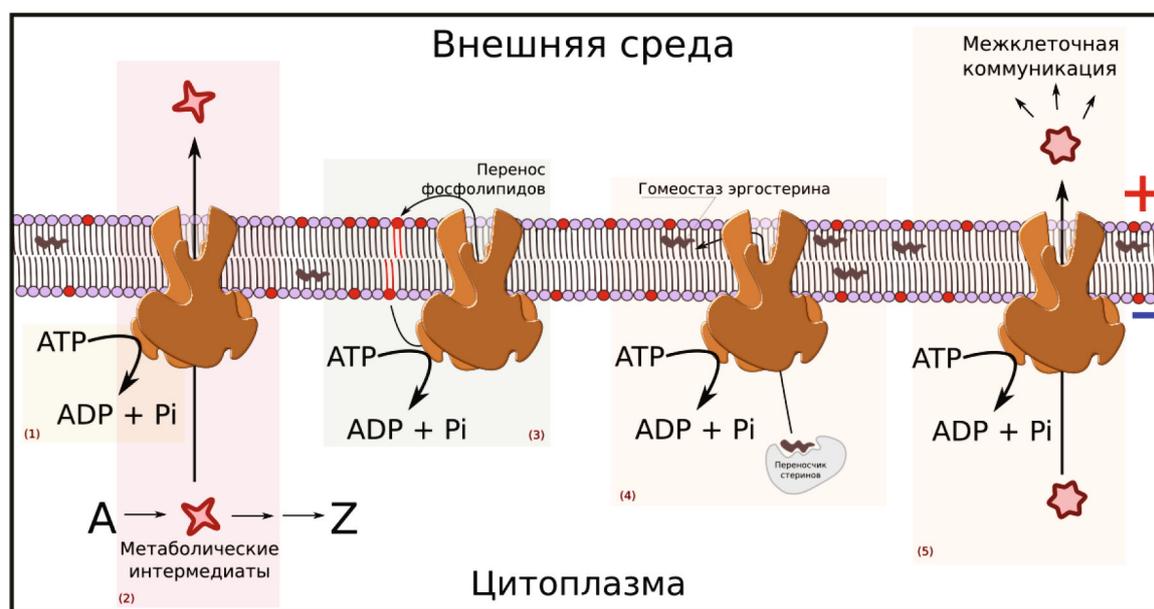


Рис. 2. Функции МЛУ-переносчиков, которые могут влиять на нормальное функционирование клетки. (1) — Трата энергии за счет базальной АТФ-гидролизующей активности; (2) — откачивание метаболитических интермедиатов. Перенос фосфолипидов из внутреннего во внешний монослой плазматической мембраны (флип-флоп) — (3) или транспорт эргостерина (4) могут неблагоприятно для клетки изменять свойства мембраны; (5) — чрезмерный выброс в окружающую среду низкомолекулярных соединений, передающих сигнал между клетками, может мешать межклеточной коммуникации. Подробное обсуждение каждого из механизмов приведено в тексте

должно быть незначительным. Однако ситуация может значительно отличаться, если уровень экспрессии *Pdr5p* увеличивается и если дрожжевые клетки находятся в условиях дефицита субстратов. Как мы упоминали выше, делеция *PDR5* увеличивает концентрацию АТФ в дрожжах в стационарной фазе роста и конечный выход биомассы в культуре клеток дрожжей [19].

МЛУ-ПЕРЕНОСЧИКИ И ОБМЕН ЛИПИДОВ

Помимо трат энергии, активность МЛУ-переносчиков может снижать общую эффективность метаболизма из-за непреднамеренного откачивания метаболических интермедиатов из клетки. Клетки дрожжей содержат тысячи метаболитов [44], однако значительную часть клеточного метаболома составляют фосфорилированные соединения, которые не могут транспортироваться МЛУ-переносчиками. Тем не менее, нефосфорилированные метаболиты теоретически могут откачиваться из клетки переносчиками с широкой субстратной специфичностью (рис. 2, 2). Так, например, некоторые поздние интермедиаты метаболического пути синтеза стероидов, вероятно, могут быть субстратами для АВС-переносчиков с широкой субстратной специфичностью. Об этом свидетельствуют по крайней мере два экспериментальных наблюдения: 1) человеческие стероидные гормоны β -эстрадиол, дезоксикортикостерон и прогестерон являются субстратами и конкурентными ингибиторами переносчика *Pdr5p* [45]; 2) АВС-переносчики *S. cerevisiae* с низкой субстратной специфичностью *Pdr11p* и *Aus1p* являются хорошо охарактеризованными переносчиками эргостерина, обеспечивающими его захват из окружающей среды в клетку [46]. В то же время эти два АВС-переносчика гомологичны АВС-переносчику с широкой субстратной специфичностью *Snq2p* [12]. Кроме пути биосинтеза стероидов, нефосфорилированные интермедиаты также присутствуют в путях биосинтеза и катаболизма ароматических аминокислот. Наконец, было показано, что переносчик *Cdr1p* дрожжей *Candida albicans* может откачивать конъюгаты глутатиона с фарнезолом [47]. В указанном исследовании авторы показали, что при добавлении экзогенного фарнезола повышенный уровень экспрессии *CDR1* снижает количество внутриклеточного глутатиона и приводит к гибели дрожжевых клеток.

Функция другого МЛУ-переносчика дрожжей *S. cerevisiae* *Pdr18p* связана с поддержанием гомеостаза стероидов в плазматической мембране

[48]. *Pdr18p* является паралогом *Snq2p* и обеспечивает клеткам устойчивость к различным ксенобиотикам [48,49]. Подобно другим генам МЛУ, *PDR18* регулируется транскрипционными факторами *Pdr1p* и *Pdr3p* [50, 51]. В условиях гиперосмотического стресса [52] дрожжевые клетки изменяют содержание эргостерина в плазматической мембране за счет белков семейства *Osh* и *Lam*, переносящих стероиды между эндоплазматической сетью и ПМ (см. обзор [53]). Таким образом, мы предполагаем, что *PDR18* может способствовать этому явлению или подобным процессам адаптации к стрессовым условиям. Известно, что ген *PDR18* влияет на состав мембран [54] и играет роль при изменении липидного состава мембраны в условиях стресса [48]. Несмотря на то, что *Pdr18p*, несомненно, обеспечивает клетке МЛУ, в его случае трудно разграничить два возможных механизма, обеспечивающих МЛУ. С одной стороны, *Pdr18* может откачивать некоторые ксенобиотики, это следует из его высокой степени гомологии с *Snq2p*. С другой стороны, *Pdr18* может оказывать косвенное влияние на активность других белков МЛУ, изменяя содержание эргостерина в плазматической мембране. Важно отметить, что активность МЛУ-переносчиков очень чувствительна к составу стероидов плазматической мембраны [55]. Для оценки относительного вклада этих двух не исключаящих друг друга механизмов необходимы дополнительные эксперименты по измерению эффективности откачивания химических соединений клеткой. Несмотря на то что для некоторых АВС-переносчиков (например, *Pdr5p*) было напрямую показано откачивание ими субстратов, даже такие переносчики могут косвенно изменять устойчивость к ксенобиотикам опосредованно, влияя на липидный состав плазматической мембраны (рис. 2, 4).

Активность АВС-переносчиков может быть связана не только с накоплением эргостерина в плазматической мембране, но также и с распределением стероидов внутри мембран. Молекулы стерина распределены внутри фосфолипидного бислоя неравномерно и неодинаково доступны ферментам со стороны цитоплазмы и со стороны внеклеточного компартмента [56, 57]. Было показано, что активность АВС-переносчика Р-гликопротеина многоклеточных животных уменьшает доступность холестерина для холестерин-оксидазы, добавленной к мембранным везикулам, содержащим Р-гликопротеин [58]. Следовательно, активность АВС-переносчиков, придающих клетке множественную лекарственную устойчивость, может приводить к перераспределению стероидов внутри фосфолипидного бислоя.

Стерины не единственные липиды, на мембранный гомеостаз которых может влиять активность МЛУ-переносчиков. Некоторые АВС-переносчики проявляют флиппазную активность и переносят фосфолипиды с внутреннего на наружный слой фосфолипидного бислоя. Этот перенос уравнивается активностью специфических АТФаз Р-типа, которые катализируют перенос фосфолипидов (флип-флоп) в обратном направлении [59]. Так, например, активация транскрипционного фактора *PDR1* уменьшает накопление в мембране фосфатидилэтаноламина, помеченного NBD (*N*-(7-Nitrobenz-2-Оха-1,3-Diazol-4-yl)-1,2-Dihexadecanoyl-sn-Glycero-3-Phosphoethanolamine) [60, 61], а делеция генов АВС-переносчиков предотвращает этот эффект и возобновляет накопление этого соединения в мембране [61]. Таким образом, МЛУ-переносчики участвуют в регуляции липидного гомеостаза путем поддержания липидной асимметрии плазматической мембраны (рис. 2, 3). Дрожжевые клетки координируют транспорт липидов с активацией МЛУ-переносчиков. Например, транскрипционный фактор *Pdr1p* регулирует не только МЛУ-переносчики, но и гены биосинтеза сфингозина [51]. Примечательно, что при этом делеция *PDR5* повышает устойчивость клеток к фитосфингозину [62]. И хотя молекулярный механизм этого эффекта до сих пор неясен, данное исследование дает нам дополнительный пример вредной для клетки активности МЛУ-переносчика.

МЛУ-ПЕРЕНОСЧИКИ И МЕЖКЛЕТОЧНАЯ КОММУНИКАЦИЯ

Чтобы при исчерпании субстратов в среде вовремя остановить рост культуры клеток, одноклеточные организмы взаимодействуют друг с другом с помощью химических сигналов. Для этого они транспортируют вторичные метаболиты или модифицированные олигопептиды из цитоплазмы в окружающую среду. При превышении определенного порога концентрации данные молекулы ингибируют рост продуцирующих их микроорганизмов. Эти механизмы самоограничения роста культуры обычно называют кворум-сенсинг (англ. quorum sensing, QS) или чувство кворума. У дрожжей кворум-сенсинг обеспечивается фарнезолом [63] или ароматическими спиртами: триптофолом и фенилэтанолом [64]. Список охарактеризованных соединений, обеспечивающий чувство кворума у грибов, можно посмотреть в работе Wongsuk et al. [65]. Эти молекулы могут диффундировать через плазматическую мембрану благодаря своей ам-

фифильной природе и регулировать переход от почкующейся формы дрожжей к псевдогифам [66, 67]. Однако молекулы QS могут оказывать влияние на функционирование других систем клетки, в том числе и МЛУ-переносчики. Так, фарнезол конкурентно ингибирует откачивание субстрата *Cdr1p* родамина 6G из клеток *S. albicans* и усиливает противогрибковую активность азолов [68]. Тирозол, напротив, индуцирует основные гены АВС-переносчиков МЛУ *CDR1* и *MDR1* в другом патогене человека *S. parapsilosis* [69].

Поскольку делеция основных МЛУ-переносчиков увеличивает скорость роста дрожжей после перехода культуры с брожения на аэробное дыхание, было высказано предположение, что МЛУ-переносчики могут обеспечивать откачивание молекул QS из клеток дрожжей [18, 20]. В своей работе Hlaváček et al. [18] предположили, что *Pdr5p* может способствовать откачиванию из клетки гипотетического метаболита, который ингибирует пролиферацию клеток в момент перехода от гликолиза к окислительному метаболизму (diauxic shift). В рамках другого исследования Prunuske et al. [20] показали, что клетки штамма *Δsnq2Δpdr5* обгоняют по скорости роста клетки дикого типа в момент перехода от брожения к дыханию. При этом кондиционная среда, в которой были выращены дрожжевые клетки дикого типа с активными АВС-переносчиками, предотвращала рост клеток *Δsnq2Δpdr5*. К сожалению, авторы этих двух исследований не идентифицировали молекулы, обеспечивающие МЛУ-зависимое чувство кворума. Более того, следует отметить, что, насколько нам известно, до сих пор неизвестно, являются ли триптофол, тирозол и фенилэтанол субстратами дрожжевых МЛУ-переносчиков.

МЛУ-переносчики могут влиять на чувство кворума по крайней мере двумя способами. С одной стороны, откачивание из клетки QS-факторов МЛУ-переносчиками может препятствовать детекции QS-молекул, если QS-рецепторы расположены в цитоплазме. Функционирование такого механизма предполагает, что инактивация генов МЛУ будет вызывать преждевременное торможение роста дрожжей экзогенными QS-факторами. С другой стороны, активность МЛУ-транспортёров может способствовать экспорту в окружающую среду QS-факторов голодающими клетками (например, клетками в центре колонии). В таком случае инактивация МЛУ-переносчиков, напротив, будет стимулировать рост клеток, несмотря на дефицит питательных веществ. Вклад каждого из этих двух гипотетических механизмов будет

зависеть от концентрации QS-веществ и активности других регуляторных механизмов. Для определения взаимосвязи между системами регуляции кворума и МЛУ необходимы дальнейшие исследования.

РЕГУЛЯЦИЯ МЛУ

Поскольку в нормальных условиях чрезмерная активность МЛУ-переносчиков может быть вредной, клеткам выгодно снижать экспрессию генов МЛУ-переносчиков и активировать их только в условиях стресса. Действительно, ксенобиотики индуцируют гены МЛУ в клетках дрожжей [70–72]. Описано несколько механизмов активации генов МЛУ-переносчиков в ответ на ксенобиотики. Во-первых, транскрипционный фактор *Pdr1p* может напрямую связывать различные чужеродные низкомолекулярные соединения, и это связывание вызывает активацию экспрессии генов-мишеней *Pdr1p* [71]. Во-вторых, некоторые соединения могут мешать митохондриям выполнять свои функции. В то же время известно, что дисфункция митохондрий индуцирует гены МЛУ через ретроградный (*Rtg-*) сигнальный путь [73, 74]. Однако до сих пор остается неясным, нарушение какой из митохондриальных функций приводит к активации МЛУ. Так, например, ингибирование митохондрий с помощью ингибитора дыхательной цепи миксотиазола и ингибитора АТФ-синтазы олигомицина не приводит к накоплению белка *Pdr5p* в дрожжевых клетках, при этом клетка сохраняет способность активировать МЛУ в ответ на другие ксенобиотики [72]. Нарушение динамики актинового цитоскелета из-за мутации актин-связывающего белка кофилина запускает митохондриальный ретроградный сигнальный путь и активацию генов МЛУ [75]. Наконец, экспрессия гена *MFS*-переносчика *FLR1*, обеспечивающего резистентность к флуконазолу, увеличивается в ответ на окислительный стресс [76, 77]. Окислительный стресс может быть следствием непосредственного ингибирования противогрибковыми соединениями их основных мишеней в цитоплазме [78]. В совокупности эти исследования показывают, что гены МЛУ-переносчиков активируются, когда клетки подвергаются химическому стрессу.

Базовый уровень экспрессии генов МЛУ также зависит от метаболического состояния клеток. Так, например, экспрессия гена *PDR5* достаточно высокая во время экспоненциального роста клеток в гликолитических условиях, но резко снижается, когда в среде заканчивается глюкоза [79]. Как следствие, при переходе от

гликолиза к окислительному метаболизму наблюдается снижение активности МЛУ-переносчиков [80]. Подобная регуляция хорошо согласуется с предположением, что поддержание МЛУ-переносчиков в условиях дефицита питательных веществ может быть вредным для клетки. Но, несмотря на снижение базовой активности, *PDR5* все еще может активироваться в клетках, находящихся в стационарной фазе роста, в ответ на добавление субстратов *Pdr5p* [79]. Более того, недавнее исследование показало, что в среде с низким содержанием глюкозы и низким содержанием аммония, в условиях образования дрожжевых псевдогиф, уровень экспрессии и активность *Pdr5p* остаются постоянными, несмотря на значительные изменения концентраций других белков [81]. Таким образом, можно предположить, что существует ряд условий, в которых гены МЛУ-переносчиков активно экспрессируются, несмотря на дефицит питательных веществ и энергии в клетке. Вероятно, в естественной среде эти условия связаны с повышенной вероятностью клетки столкнуться с антимикотиками, в этом случае подобная регуляция МЛУ необходима, чтобы предотвратить их воздействие на клетку путем увеличения экспрессии генов МЛУ.

Как мы обсуждали выше, функционирование *ABC*-переносчиков может нарушать гомеостаз стероидов. Таким образом, можно было бы ожидать координацию между активностью метаболизма эргостерина и регуляцией МЛУ-переносчиков. Действительно, чувствительный к эргостерину транскрипционный фактор *Urc2p* регулирует уровень экспрессии генов МЛУ-переносчика *CDR1* и *PDR1* в дрожжах *S. glabrata* [82]. Более того, недавно нами было обнаружено, что делеция генов *LAM* нарушает внутриклеточное распределение эргостерина и приводит к накоплению *Pdr5-GFP* в клетках *S. cerevisiae* [83]. Эти данные показывают координацию регуляции метаболизма и транспорта стероидов, с одной стороны, и экспрессии генов МЛУ, с другой стороны.

Следует отметить, что индивидуальные клетки *S. cerevisiae* в значительной степени отличаются друг от друга по концентрации *Pdr5p* [84]. Эту межклеточную гетерогенность обычно объясняют стохастичностью экспрессии и называют транскрипционным шумом [85]. Мы предполагаем, что причиной этой фенотипической гетерогенности также может быть разница в репликативном возрасте отдельных дрожжевых клеток [86]. В то же время искусственно увеличенная гетерогенность экспрессии *PDR5* может увеличивать устойчивость суспензии клеток *S. cerevisiae* к азолам [87]. Отсюда следует, что увеличение гете-

рогенности экспрессии генов МЛУ может обеспечить субпопуляцию дрожжевых клеток преимуществами лекарственной устойчивости, избегая затрат на поддержание МЛУ-переносчиков всеми дрожжевыми клетками в суспензии. Поддержание фенотипической гетерогенности микробных популяций в англоязычной литературе обычно называют «bet-hedging» (распределение рисков). Мы предполагаем, что подобное явление вместе с тщательной регуляцией экспрессии генов МЛУ – это эффективная стратегия клеток, которая снижает негативное влияние МЛУ-переносчиков в нормальных условиях.

В данном обзоре проанализированы работы, в которых было показано, что инактивация МЛУ-переносчиков увеличивает приспособленность клеток дрожжей к окружающим условиям среды, и обсуждены возможные механизмы негативного воздействия на клетки дрожжевых МЛУ-переносчиков: таких как, например, бесполезный гидролиз АТФ, нарушение гомеостаза липидов и межклеточной коммуникации. Возможно, что некоторые из этих механизмов справедливы также для Р-гликопротеина млекопитающих и бактериальных АВС-переносчиков. Высокая «стоимость» работы МЛУ-переносчиков предполагает некий компромисс. С одной стороны, эти переносчики могут защищать клетки от неожиданно появившихся в окружающей среде ксенобиотиков. С другой стороны, они снижают общую приспособленность клеток в нормальных условиях. Регуляция экспрессии АВС-переносчиков решает эту проблему, активируя гены этих переносчиков

только при воздействии на клетки химического стресса. Однако подобная необходимость активации МЛУ делает клетки уязвимыми. Так, клетки окажутся беззащитны против гипотетического токсина, который сможет избежать детекции внутри клетки и, таким образом, не приведет к активации МЛУ. Использование этой возможности – многообещающая стратегия для разработки новых и эффективных противомикробных препаратов.

Благодарности. Мы благодарны В.П. Скулачеву за плодотворное обсуждение основных принципов регуляции множественной лекарственной устойчивости на организованных им семинарах по биоэнергетике.

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований [грант INT/RUS/RFBR/P-328 (Индия)/RFBR grant N 18-54-45001 IND-A (Россия)]; Российского научного фонда (грант 20-14-00268) (глава «Активность АВС-переносчиков создает дополнительную нагрузку на клеточную энергетiku»). Данная работа также была поддержана грантом МГУ им. М.В. Ломоносова для поддержки ведущих научных школ МГУ «Депозитарий живых систем Московского университета» в рамках Программы развития МГУ.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов между ними.

Соблюдение этических норм. Данная работа не содержит исследований, в которых в качестве объектов были бы использованы люди или животные.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Aas, P. A., Otterlei, M., Falnes, P. O., Vågbo, C. B., Skorpen, F., Akbari, M., et al. (2003) Human and bacterial oxidative demethylases repair alkylation damage in both RNA and DNA, *Nature*, **421**, 859-863, doi: 10.1038/nature01363.
2. Chernova, T. A., Wilkinson, K. D., and Chernoff, Y. O. (2017) Prions, chaperones, and proteostasis in yeast, *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.*, **9**, doi: 10.1101/cshperspect.a023663.
3. Meunier, J. (2015) Social immunity and the evolution of group living in insects, *Philos. Trans. R Soc. Lond. B Biol. Sci.*, **370**, doi: 10.1098/rstb.2014.0102.
4. Keller, N. P., Turner, G., and Bennett, J. W. (2005) Fungal secondary metabolism – from biochemistry to genomics, *Nat. Rev. Microbiol.*, **3**, 937-947, doi: 10.1038/nrmicro1286.
5. Macheleidt, J., Mattern, D. J., Fischer, J., Netzker, T., Weber, J., Schroeckh, V., et al. (2016) Regulation and role of fungal secondary metabolites, *Annu. Rev. Genet.*, **50**, 371-392, doi: 10.1146/annurev-genet-120215-035203.
6. Zarnowski, R., Sanchez, H., Covelli, A. S., Dominguez, E., Jaromin, A., Bernhardt, J., et al. (2018) *Candida albicans* biofilm-induced vesicles confer drug resistance through matrix biogenesis, *PLoS Biol.*, **16**, e2006872, doi: 10.1371/journal.pbio.2006872.
7. Khandelwal, N. K., Wasi, M., Nair, R., Gupta, M., Kumar, M., Mondal, A. K., et al. (2019) Vacuolar sequestration of azoles, a novel strategy of azole antifungal resistance conserved across pathogenic and nonpathogenic yeast, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **63**, doi: 10.1128/AAC.01347-18.
8. Chang, W., Zhang, M., Zheng, S., Li, Y., Li, X., Li, W., et al. (2015) Trapping toxins within lipid droplets is a resistance mechanism in fungi, *Sci. Rep.*, **5**, 15133, doi: 10.1038/srep15133.
9. Bush, K., and Bradford, P. A. (2019) Interplay between β -lactamases and new β -lactamase inhibitors, *Nat. Rev. Microbiol.*, **17**, 295-306, doi: 10.1038/s41579-019-0159-8.

10. Hlavica, P. (2013) Evaluation of structural features in fungal cytochromes *P450* predicted to rule catalytic diversification, *Biochim. Biophys. Acta*, **1834**, 205-220, doi: 10.1016/j.bbapap.2012.09.012.
11. Panwar, S. L., Pasrija, R., and Prasad, R. (2008) Membrane homeostasis and multidrug resistance in yeast, *Biosci. Rep.*, **28**, 217-228, doi: 10.1042/BSR20080071.
12. Cannon, R. D., Lamping, E., Holmes, A. R., Niimi, K., Baret, P. V., Keniya, M. V., et al. (2009) Efflux-mediated antifungal drug resistance, *Clin. Microbiol. Rev.*, **22**, 291-321, doi: 10.1128/CMR.00051-08.
13. Gottesman, M. M., Fojo, T., and Bates, S. E. (2002) Multidrug resistance in cancer: role of ATP-dependent transporters, *Nat Rev Cancer*, **2**, 48-58, doi: 10.1038/nrc706.
14. Di, C., and Zhao, Y. (2015) Multiple drug resistance due to resistance to stem cells and stem cell treatment progress in cancer (review), *Exp. Ther. Med.*, **9**, 289-293, doi: 10.3892/etm.2014.2141.
15. Lewis, K. (2020) The science of antibiotic discovery, *Cell*, **181**, 29-45, doi: 10.1016/j.cell.2020.02.056.
16. Fetisova, E. K., Avetisyan, A. V., Izyumov, D. S., Korotetskaya, M. V., Chernyak, B. V., and Skulachev, V. P. (2010) Mitochondria-targeted antioxidant SkQR1 selectively protects MDR (Pgp 170)-negative cells against oxidative stress, *FEBS Lett.*, **584**, 562-566, doi: 10.1016/j.febslet.2009.12.002.
17. Nazarov, P. A., Osterman, I. A., Tokarchuk, A. V., Karakozova, M. V., Korshunova, G. A., et al. (2017) Mitochondria-targeted antioxidants as highly effective antibiotics, *Sci. Rep.*, **7**, 1394, doi: 10.1038/s41598-017-00802-8.
18. Hlaváček, O., Kucerová, H., Harant, K., Palková, Z., and Váchová, L. (2009) Putative role for ABC multidrug exporters in yeast quorum sensing, *FEBS Lett.*, **583**, 1107-1113, doi: 10.1016/j.febslet.2009.02.030.
19. Krasowska, A., Łukaszewicz, M., Bartosiewicz, D., and Sigler, K. (2010) Cell ATP level of *Saccharomyces cerevisiae* sensitively responds to culture growth and drug-inflicted variations in membrane integrity and PDR pump activity, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **395**, 51-55, doi: 10.1016/j.bbrc.2010.03.133.
20. Prunuske, A. J., Waltner, J. K., Kuhn, P., Gu, B., and Craig, E. A. (2012) Role for the molecular chaperones Zuo1 and Ssz1 in quorum sensing via activation of the transcription factor Pdr1, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **109**, 472-477, doi: 10.1073/pnas.1119184109.
21. Galkina, K. V., Finkelberg, J. M., Markova, O. V., Azbarova, A. V., Banerjee, A., Kumari, S., et al. (2020) Protonophore FCCP provides fitness advantage to PDR-deficient yeast cells, *J. Bioenerg. Biomembr.*, **52**, 383-395, doi: 10.1007/s10863-020-09849-1.
22. Usher, J., and Haynes, K. (2019) Attenuating the emergence of anti-fungal drug resistance by harnessing synthetic lethal interactions in a model organism, *PLoS Genet.*, **15**, e1008259, doi: 10.1371/journal.pgen.1008259.
23. Moye-Rowley, W. S. (2018) Multiple interfaces control activity of the *Candida glabrata* Pdr1 transcription factor mediating azole drug resistance, *Curr. Genet.*, doi: 10.1007/s00294-018-0870-4.
24. Boyer, J., Badis, G., Fairhead, C., Talla, E., Hantraye, F., Fabre, E., et al. (2004) Large-scale exploration of growth inhibition caused by overexpression of genomic fragments in *Saccharomyces cerevisiae*, *Genome Biol.*, **5**, 72, doi: 10.1186/gb-2004-5-9-r72.
25. Wale, N., Sim, D. G., Jones, M. J., Salathe, R., Day, T., and Read, A. F. (2017) Resource limitation prevents the emergence of drug resistance by intensifying within-host competition, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **114**, 13774-13779, doi: 10.1073/pnas.1715874115.
26. Prasad, R., and Goffeau, A. (2012) Yeast ATP-binding cassette transporters conferring multidrug resistance, *Annu. Rev. Microbiol.*, **66**, 39-63, doi: 10.1146/annurev-micro-092611-150111.
27. Moreno, A., Banerjee, A., Prasad, R., and Falson, P. (2019) PDR-like ABC systems in pathogenic fungi, *Res. Microbiol.*, **170**, 417-425, doi: 10.1016/j.resmic.2019.09.002.
28. Tsao, S., Rahkhoodae, F., and Raymond, M. (2009) Relative contributions of the *Candida albicans* ABC transporters Cdr1p and Cdr2p to clinical azole resistance, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **53**, 1344-1352, doi: 10.1128/AAC.00926-08.
29. Wasi, M., Khandelwal, N. K., Moorhouse, A. J., Nair, R., Vishwakarma, P., Bravo Ruiz, G., et al. (2019) ABC Transporter genes show upregulated expression in drug-resistant clinical isolates of *Candida auris*: a genome-wide characterization of ATP-binding cassette (ABC) transporter genes, *Front. Microbiol.*, **10**, 1445, doi: 10.3389/fmicb.2019.01445.
30. Cowen, L. E., and Lindquist, S. (2005) Hsp90 potentiates the rapid evolution of new traits: drug resistance in diverse fungi, *Science*, **309**, 2185-2189, doi: 10.1126/science.1118370.
31. Sauna, Z. E., Bohn, S. S., Rutledge, R., Dougherty, M. P., Cronin, S., May, L., et al. (2008) Mutations define crosstalk between the N-terminal nucleotide-binding domain and transmembrane helix-2 of the yeast multidrug transporter Pdr5: possible conservation of a signaling interface for coupling ATP hydrolysis to drug transport, *J. Biol. Chem.*, **283**, 35010-35022, doi: 10.1074/jbc.M806446200.
32. Kim, Y., and Chen, J. (2018) Molecular structure of human P-glycoprotein in the ATP-bound, outward-facing conformation, *Science*, **359**, 915-919, doi: 10.1126/science.aar7389.
33. Ernst, R., Kueppers, P., Stindt, J., Kuchler, K., and Schmitt, L. (2010) Multidrug efflux pumps: substrate selection in ATP-binding cassette multidrug efflux pumps – first come, first served? *FEBS J.*, **277**, 540-549, doi: 10.1111/j.1742-4658.2009.07485.x.
34. Gupta, R. P., Kueppers, P., Schmitt, L., and Ernst, R. (2011) The multidrug transporter Pdr5: a molecular diode? *Biol. Chem.*, **392**, 53-60, doi: 10.1515/BC.2011.011.
35. Hofmann, S., Janulienė, D., Mehdipour, A. R., Thomas, C., Stefan, E., Brüchert, S., et al. (2019) Conformation space of a heterodimeric ABC exporter under turnover conditions, *Nature*, **571**, 580-583, doi: 10.1038/s41586-019-1391-0.
36. Ernst, R., Kueppers, P., Klein, C. M., Schwarzmueller, T., Kuchler, K., and Schmitt, L. (2008) A mutation of the H-loop selectively affects rhodamine transport by the yeast multidrug ABC transporter Pdr5, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **105**, 5069-5074, doi: 10.1073/pnas.0800191105.
37. Decottignies, A., Kolaczowski, M., Balzi, E., and Goffeau, A. (1994) Solubilization and characterization of

- the overexpressed PDR5 multidrug resistance nucleotide triphosphatase of yeast, *J. Biol. Chem.*, **269**, 12797-12803.
38. Downes, M. T., Mehla, J., Ananthaswamy, N., Wakschlag, A., Lamonde, M., Dine, E., et al. (2013) The transmission interface of the *Saccharomyces cerevisiae* multidrug transporter Pdr5: Val-656 located in intracellular loop 2 plays a major role in drug resistance, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **57**, 1025-034, doi: 10.1128/AAC.02133-12.
 39. Golin, J., Kon, Z. N., Wu, C.-P., Martello, J., Hanson, L., Supernavage, S., et al. (2007) Complete inhibition of the Pdr5p multidrug efflux pump ATPase activity by its transport substrate clotrimazole suggests that GTP as well as ATP may be used as an energy source, *Biochemistry*, **46**, 13109-13119, doi: 10.1021/bi701414f.
 40. Wagner, M., Smits, S. H. J., and Schmitt, L. (2019) *In vitro* NTPase activity of highly purified Pdr5, a major yeast ABC multidrug transporter, *Sci. Rep.*, **9**, 7761, doi: 10.1038/s41598-019-44327-8.
 41. Golin, J., and Ambudkar, S. V. (2015) The multidrug transporter Pdr5 on the 25th anniversary of its discovery: an important model for the study of asymmetric ABC transporters, *Biochem. J.*, **467**, 353-363, doi: 10.1042/BJ20150042.
 42. Ho, B., Baryshnikova, A., and Brown, G. W. (2018) Unification of protein abundance datasets yields a quantitative *Saccharomyces cerevisiae* proteome, *Cell Syst.*, **6**, 192-205, doi: 10.1016/j.cels.2017.12.004.
 43. Sheldon, J. G., Williams, S. P., Fulton, A. M., and Brindle, K. M. (1996) 31P NMR magnetization transfer study of the control of ATP turnover in *Saccharomyces cerevisiae*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **93**, 6399-6404, doi: 10.1073/pnas.93.13.639.9.
 44. Ramirez-Gaona, M., Marcu, A., Pon, A., Guo, A. C., Sajed, T., Wishart, N. A., et al. (2017) YMDB 2.0: a significantly expanded version of the yeast metabolome database, *Nucleic Acids Res.*, **45**, 440-445, doi: 10.1093/nar/gkw1058.
 45. Kolaczowski, M., van der Rest, M., Cybularz-Kolaczowska, A., Soumillion, J. P., Konings, W. N., and Goffeau, A. (1996) Anticancer drugs, ionophoric peptides, and steroids as substrates of the yeast multidrug transporter Pdr5p, *J. Biol. Chem.*, **271**, 31543-31548, doi: 10.1074/jbc.271.49.31543.
 46. Wilcox, L. J., Balderes, D. A., Wharton, B., Tinkelenberg, A. H., Rao, G., and Sturley, S. L. (2002) Transcriptional profiling identifies two members of the ATP-binding cassette transporter superfamily required for sterol uptake in yeast, *J. Biol. Chem.*, **277**, 32466-32472, doi: 10.1074/jbc.M204707200.
 47. Zhu, J., Krom, B. P., Sanglard, D., Intapa, C., Dawson, C. C., Peters, B. M., et al. (2011) Farnesol-induced apoptosis in *Candida albicans* is mediated by Cdr1-p extrusion and depletion of intracellular glutathione, *PLoS One*, **6**, e28830, doi: 10.1371/journal.pone.0028830.
 48. Cabrito, T. R., Teixeira, M. C., Singh, A., Prasad, R., and Sá-Correia, I. (2011) The yeast ABC transporter Pdr18 (ORF YNR070w) controls plasma membrane sterol composition, playing a role in multidrug resistance, *Biochem. J.*, **440**, 195-202, doi: 10.1042/BJ20110876.
 49. Godinho, C. P., Dias, P. J., Ponçot, E., and Sá-Correia, I. (2018) The paralogous genes PDR18 and SNQ2, encoding multidrug resistance ABC transporters, derive from a recent duplication event, PDR18 being specific to the *Saccharomyces* genus, *Front. Genet.*, **9**, 476, doi: 10.3389/fgene.2018.00476.
 50. Salin, H., Fardeau, V., Piccini, E., Lelandais, G., Tanty, V., Lemoine, S., et al. (2008) Structure and properties of transcriptional networks driving selenite stress response in yeasts, *BMC Genomics*, **9**, 333, doi: 10.1186/1471-2164-9-333.
 51. Shahi, P., and Moye-Rowley, W. S. (2009) Coordinate control of lipid composition and drug transport activities is required for normal multidrug resistance in fungi, *Biochim. Biophys. Acta*, **1794**, 852-859, doi: 10.1016/j.bbapap.2008.12.012.
 52. Montañés, F. M., Pascual-Ahuir, A., and Proft, M. (2011) Repression of ergosterol biosynthesis is essential for stress resistance and is mediated by the Hog1 MAP kinase and the Mot3 and Rox1 transcription factors, *Mol. Microbiol.*, **79**, 1008-1023, doi: 10.1111/j.1365-2958.2010.07502.x.
 53. Sokolov, S. S., Trushina, N. I., Severin, F. F., and Knorre, D. A. (2019) Ergosterol turnover in yeast: an interplay between biosynthesis and transport, *Biochemistry*, **84**, 346-357, doi: 10.1134/S0006297919040023.
 54. Godinho, C. P., Prata, C. S., Pinto, S. N., Cardoso, C., Bandarra, N. M., Fernandes, F., et al. (2018) Pdr18 is involved in yeast response to acetic acid stress counteracting the decrease of plasma membrane ergosterol content and order, *Sci. Rep.*, **8**, 7860, doi: 10.1038/s41598-018-26128-7.
 55. Kodedová, M., and Sychrová, H. (2015) Changes in the sterol composition of the plasma membrane affect membrane potential, salt tolerance and the activity of multidrug resistance pumps in *Saccharomyces cerevisiae*, *PLoS One*, **10**, e0139306, doi: 10.1371/journal.pone.0139306.
 56. Liu, S.-L., Sheng, R., Jung, J. H., Wang, L., Stec, E., O'Connor, M. J., et al. (2017) Orthogonal lipid sensors identify transbilayer asymmetry of plasma membrane cholesterol, *Nat. Chem. Biol.*, **13**, 268-274, doi: 10.1038/nchembio.2268.
 57. Solanko, L. M., Sullivan, D. P., Sere, Y. Y., Szomek, M., Lunding, A., Solanko, K. A., et al. (2018) Ergosterol is mainly located in the cytoplasmic leaflet of the yeast plasma membrane, *Traffic*, **19**, 198-214, doi: 10.1111/tra.12545.
 58. Garrigues, A., Escargueil, A. E., and Orlowski, S. (2002) The multidrug transporter, P-glycoprotein, actively mediates cholesterol redistribution in the cell membrane, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **99**, 10347-10352, doi: 10.1073/pnas.162366399.
 59. Pomorski, T., Holthuis, J. C. M., Herrmann, A., and van Meer, G. (2004) Tracking down lipid flippases and their biological functions, *J. Cell. Sci.*, **117**, 805-813, doi: 10.1242/jcs.01055.
 60. Kean, L. S., Grant, A. M., Angeletti, C., Mahé, Y., Kuchler, K., Fuller, R. S., et al. (1997) Plasma membrane translocation of fluorescent-labeled phosphatidylethanolamine is controlled by transcription regulators, PDR1 and PDR3, *J. Cell. Biol.*, **138**, 255-270, doi: 10.1083/jcb.138.2.255.
 61. Decottignies, A., Grant, A. M., Nichols, J. W., de Wet, H., McIntosh, D. B., and Goffeau, A. (1998) ATPase and multidrug transport activities of the overexpressed yeast ABC protein Yor1p, *J. Biol. Chem.*, **273**, 12612-12622, doi: 10.1074/jbc.273.20.12612.

62. Kihara, A., and Igarashi, Y. (2004) Cross talk between sphingolipids and glycerophospholipids in the establishment of plasma membrane asymmetry, *Mol. Biol. Cell*, **15**, 4949-4959, doi: 10.1091/mbc.e04-06-0458.
63. Hornby, J. M., Jensen, E. C., Lisec, A. D., Tasto, J. J., Jahnke, B., et al. (2001) Quorum sensing in the dimorphic fungus *Candida albicans* is mediated by farnesol, *Appl. Environ. Microbiol.*, **67**, 2982-2992, doi: 10.1128/AEM.67.7.2982-2992.2001.
64. Chen, H., and Fink, G. R. (2006) Feedback control of morphogenesis in fungi by aromatic alcohols, *Genes Dev.*, **20**, 1150-1161, doi: 10.1101/gad.1411806.
65. Wongsuk, T., Pumeesat, P., and Luplertlop, N. (2016) Fungal quorum sensing molecules: role in fungal morphogenesis and pathogenicity, *J. Basic Microbiol.*, **56**, 440-447, doi: 10.1002/jobm.201500759.
66. Enjalbert, B., and Whiteway, M. (2005) Release from quorum-sensing molecules triggers hyphal formation during *Candida albicans* resumption of growth, *Eukaryot. Cell*, **4**, 1203-1210, doi: 10.1128/EC.4.7.1203-1210.2005.
67. Davis-Hanna, A., Piispanen, A. E., Stateva, L. I., and Hogan, D. A. (2007) Farnesol and dodecanol effects on the *Candida albicans* Ras1-cAMP signalling pathway and the regulation of morphogenesis Internet, *Mol. Microbiol.*, **47**-62, doi: 10.1111/j.1365-2958.2007.06013.x.
68. Sharma, M., and Prasad, R. (2011) The quorum-sensing molecule farnesol is a modulator of drug efflux mediated by ABC multidrug transporters and synergizes with drugs in *Candida albicans*, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **55**, 4834-4843, doi: 10.1128/AAC.00344-11.
69. Jakab, Á., Tóth, Z., Nagy, F., Nemes, D., Bácskay, I., Kardos, G., et al. (2019) Physiological and transcriptional responses of *Candida parapsilosis* to exogenous tyrosol, *Appl. Environ. Microbiol.*, **85**, doi: 10.1128/AEM.01388-19.
70. Teixeira, M. C., and Sá-Correia, I. (2002) *Saccharomyces cerevisiae* resistance to chlorinated phenoxyacetic acid herbicides involves Pdr1p-mediated transcriptional activation of *TPO1* and *PDR5* genes, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **292**, 530-537, doi: 10.1006/bbrc.2002.6691.
71. Thakur, J. K., Arthanari, H., Yang, F., Pan, S.-J., Fan, X., Breger, J., et al. (2008) A nuclear receptor-like pathway regulating multidrug resistance in fungi, *Nature*, **452**, 604-609, doi: 10.1038/nature06836.
72. Galkina, K. V., Besedina, E. G., Zinovkin, R. A., Severin, F. F., and Knorre, D. A. (2018) Penetrating cations induce pleiotropic drug resistance in yeast, *Sci. Rep.*, **8**, 8131, doi: 10.1038/s41598-018-26435-z.
73. Hallstrom, T. C., and Moye-Rowley, W. S. (2000) Multiple signals from dysfunctional mitochondria activate the pleiotropic drug resistance pathway in *Saccharomyces cerevisiae*, *J. Biol. Chem.*, **275**, 37347-37356, doi: 10.1074/jbc.M007338200.
74. Zhang, X., and Moye-Rowley, W. S. (2001) *Saccharomyces cerevisiae* multidrug resistance gene expression inversely correlates with the status of the F(0) component of the mitochondrial ATPase, *J. Biol. Chem.*, **276**, 47844-47852, doi: 10.1074/jbc.M106285200.
75. Kotiadis, V. N., Leadsham, J. E., Bastow, E. L., Gheeraert, A., Whybrew, J. M., Bard, M., et al. (2012) Identification of new surfaces of cofilin that link mitochondrial function to the control of multi-drug resistance, *J. Cell. Sci.*, **125**, 2288-2299, doi: 10.1242/jcs.099390.
76. Chen, K.-H., Miyazaki, T., Tsai, H.-F., and Bennett, J. E. (2007) The bZip transcription factor Cgap1p is involved in multidrug resistance and required for activation of multidrug transporter gene CgFLR1 in *Candida glabrata*, *Gene*, **386**, 63-72, doi: 10.1016/j.gene.2006.08.010.
77. Galkina, K. V., Okamoto, M., Chibana, H., Knorre, D. A., and Kajiwar, S. (2019) Deletion of CDR1 reveals redox regulation of pleiotropic drug resistance in *Candida glabrata*, *Biochimie*, **170**, 49-56, doi: 10.1016/j.biochi.2019.12.002.
78. Belenky, P., Camacho, D., and Collins, J. J. (2013) Fungicidal drugs induce a common oxidative-damage cellular death pathway, *Cell Rep.*, **3**, 350-358, doi: 10.1016/j.celrep.2012.12.021.
79. Mamnun, Y. M., Schüller, C., and Kuchler, K. (2004) Expression regulation of the yeast PDR5 ATP-binding cassette (ABC) transporter suggests a role in cellular detoxification during the exponential growth phase, *FEBS Lett.*, **559**, 111-117, doi: 10.1016/S0014-5793(04)00046-8.
80. Cadek, R., Chládková, K., Sigler, K., and Gásková, D. (2004) Impact of the growth phase on the activity of multidrug resistance pumps and membrane potential of *S. cerevisiae*: effect of pump overproduction and carbon source, *Biochim. Biophys. Acta*, **1665**, 111-117, doi: 10.1016/j.bbamem.2004.06.020.
81. Rahman, H., Carneglia, J., Lausten, M., Robertello, M., Choy, J., and Golin, J. (2018) Robust, pleiotropic drug resistance 5 (Pdr5)-mediated multidrug resistance is vigorously maintained in *Saccharomyces cerevisiae* cells during glucose and nitrogen limitation, *FEMS Yeast Res.*, **18**, doi: 10.1093/femsyr/foy029.
82. Vu, B. G., Thomas, G. H., and Moye-Rowley, W. S. (2019) Evidence that ergosterol biosynthesis modulates activity of the Pdr1 transcription factor in *Candida glabrata*, *MBio*, **10**, doi: 10.1128/mBio.00934-19.
83. Sokolov, S. S., Vorobeva, M. A., Smirnova, A. I., Smirnova, E. A., Trushina, N. I., et al. (2020) *LAM* Genes contribute to environmental stress tolerance but sensitize yeast cells to azoles, *Front. Microbiol.*, **11**, 38, doi: 10.3389/fmicb.2020.00038.
84. Azbarova, A. V., Galkina, K. V., Sorokin, M. I., Severin, F. F., and Knorre, D. A. (2017) The contribution of *Saccharomyces cerevisiae* replicative age to the variations in the levels of Trx2p, Pdr5p, Can1p and Idh isoforms, *Sci. Rep.*, **7**, 13220, doi: 10.1038/s41598-017-13576-w.
85. Liu, J., François, J.-M., and Capp, J.-P. (2016) Use of noise in gene expression as an experimental parameter to test phenotypic effects, *Yeast*, **33**, 209-216, doi: 10.1002/yea.3152.
86. Knorre, D. A., Azbarova, A. V., Galkina, K. V., Feniouk, B. A., and Severin, F. F. (2018) Replicative aging as a source of cell heterogeneity in budding yeast, *Mech. Ageing Dev.*, **176**, 24-31, doi: 10.1016/j.mad.2018.09.001.
87. Bódi, Z., Farkas, Z., Nevozhay, D., Kalapis, D., Lázár, V., Csörgő, B., et al. (2017) Phenotypic heterogeneity promotes adaptive evolution, *PLoS Biol.*, **15**, e2000644, doi: 10.1371/journal.pbio.2000644.

DO MULTIPLE DRUG RESISTANCE TRANSPORTERS INTERFERE WITH CELL FUNCTIONING UNDER NORMAL CONDITIONS?

Review

D. A. Knorre^{1,2*}, K. V. Galkina¹, T. Shirokovskikh³, A. Banerjee⁴, and R. Prasad⁴

¹ *Belozersky Institute of Physico-Chemical Biology, Moscow State University, 119991 Moscow, Russia; E-mail: knorre@belozersky.msu.ru*

² *Institute of Molecular Medicine, Sechenov First Moscow State Medical University, 119992 Moscow, Russia*

³ *Faculty of Bioengineering and Bioinformatics, Moscow State University, 119991 Moscow, Russia*

⁴ *Amity Institute of Biotechnology and Amity Institute of Integrative Sciences and Health, Amity University Haryana, Amity Education Valley, Gurugram, 122413, India*

Received July 3, 2020

Revised August 25, 2020

Accepted August 25, 2020

Eukaryotic cells rely on multiple mechanisms to protect themselves from exogenous toxic compounds. For instance, cells can limit penetration of toxic molecules through the plasma membrane or sequester them within the specialized compartments. Plasma membrane transporters with broad substrate specificity confer multiple drug resistance (MDR) to cells. These transporters efflux toxic compounds at the cost of ATP hydrolysis (ABC-transporters) or proton influx (MFS-transporters). In our review, we discuss the possible costs of having an active drug-efflux system using yeast cells as an example. The pleiotropic drug resistance (PDR) subfamily ABC-transporters are known to constitutively hydrolyze ATP even without any substrate stimulation or transport across the membrane. Besides, some MDR-transporters have flippase activity allowing transport of lipids from inner to outer lipid layer of the plasma membrane. Thus, excessive activity of MDR-transporters can adversely affect plasma membrane properties. Moreover, broad substrate specificity of ABC-transporters also suggests the possibility of unintentional efflux of some natural metabolic intermediates from the cells. Furthermore, in some microorganisms, transport of quorum-sensing factors is mediated by MDR transporters; thus, overexpression of the transporters can also disturb cell-to-cell communications. As a result, under normal conditions, cells keep MDR-transporter genes repressed and activate them only upon exposure to stresses. We speculate that exploiting limitations of the drug-efflux system is a promising strategy to counteract MDR in pathogenic fungi.

Keywords: multiple drug resistance, yeast, ABC-transporters, signalling, pleiotropic drug resistance