

## КОЛЛЕКЦИЯ РЕКОМБИНАНТНЫХ БЕТА-ЛАКТАМАЗ ДЛЯ СКРИНИНГА АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫХ ПРЕПАРАТОВ

© 2024 г. В. Г. Григоренко<sup>1, \*</sup>, О. В. Серова<sup>2</sup>, И. П. Андреева<sup>1</sup>, М. Ю. Рубцова<sup>1</sup>, А. М. Егоров<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Химический факультет, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, 119991 Россия

<sup>2</sup>ФГБУН Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина  
и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва, 117997 Россия

\*e-mail: vitya.grigorenko@gmail.com

Поступила в редакцию 17.10.2024 г.

После доработки 19.11.2024 г.

Принята к публикации 21.11.2024 г.

Методами генной инженерии создана коллекция рекомбинантных продуцентов бактериальных ферментов бета-лактамаз, относящихся как к существующим природным аналогам, так и мутантным формам природных ферментов. В настоящее время коллекция включает ферменты TEM (молекулярный класс А), CTX-M (молекулярный класс А), VIM (молекулярный класс В), NDM (молекулярный класс В) типов. Набор рекомбинантных бета-лактамаз может быть использован для скрининга новых антибактериальных препаратов и ингибиторов *in vitro*. Коллекция продуцентов бета-лактамаз включена в состав Депозитария живых систем “Ноев Ковчег” МГУ имени М.В. Ломоносова.

**Ключевые слова:** бета-лактамазы, рекомбинантные ферменты, мутации, антибиотикорезистентность бактерий

**DOI:** 10.56304/S0234275824060085

### ВВЕДЕНИЕ

Основной причиной устойчивости грамотрицательных бактерий к бета-лактамам антибиотикам (пенициллинам, цефалоспорином, карбапенемам, монобактамам) является продуцирование ими бактериальных ферментов бета-лактамаз [1, 2]. Принцип их действия основан на гидролизе амидной связи бета-лактамного кольца молекулы антибиотика, в результате чего он не может связаться со своей мишенью – пенициллинсвязывающими белками. Эволюция бета-лактамаз привела к образованию суперсемейства из 2800 ферментов, различающихся по своей активности и субстратной специфичности [2]. Такое разнообразие бета-лактамаз резко ограничивает использование в здравоохранении и сельском хозяйстве бета-лактаменных антибиотиков, производство которых составляет более 60% мирового рынка антибактериальных препаратов [3].

На основе гомологии первичных последовательностей и строения активного центра бета-лактамазы разделяются на четыре молекулярных класса: А, С и D с каталитическим серином в активном центре и В – металлоферменты с одним или двумя ионами цинка [4]. Учитывая различия

в профилях субстратной специфичности и чувствительности к ингибиторам бета-лактаманной природы (клавулановая кислота, сульбактам и тазобактам) бета-лактамазы подразделяются на фенотипы: *2b* – гидролизующие пенициллины; *2be* – гидролизующие пенициллины и цефалоспорины (бета-лактамазы расширенного спектра, БЛРС); *2br* – устойчивые к ингибиторам; *2ber* – БЛРС, устойчивые к ингибиторам, *3a* – гидролизующие все бета-лактамы, кроме монобактамов и устойчивые к ингибиторам и другие [5].

Вследствие большого разнообразия этих бактериальных ферментов и опасности их широкого распространения актуальным является комплексное изучение структуры и свойств бета-лактамаз, поиск эффективных ингибиторов и разработка методов молекулярно-генетической диагностики. Кроме этого, бета-лактамазы находят применение в различных биотехнологических методах, например, в составе гибридных белков для получения антител [6], с наноантителами для изучения взаимодействия бактериофагов с бактериальными клетками и потенциометрических биосенсоров [7, 8], с олигонуклеотидами для молекулярно-генетического анализа [9]. Необходимым условием данных исследований является наличие широкого набора ферментов данного суперсемейства. Целью настоящей работы было создание коллекции рекомби-

Список сокращений: БЛРС – бета-лактамазы расширенного спектра; ПЦР – полимеразная цепная реакция.

нантных продуцентов бета-лактамаз молекулярных классов А и В с различными фенотипами.

### УСЛОВИЯ ЭКСПЕРИМЕНТА

Получение рекомбинантных продуцентов, выделение рекомбинантных бета-лактамаз и изучение их свойств проводили по методикам, описанным детально ранее [10–12]. Для генетических манипуляций использовали клетки *E. coli* линии DH5 $\alpha$ , плазмидный вектор pET-24, для экспрессии белка – клетки *E. coli* BL21(DE3) (Novagen, США). Клетки культивировали в среде LB (1% экстракт дрожжей, 1% пептон, 0.5% NaCl), содержащей 50 мг/л канамицина. Мутации в ферменты вводили методом Quick Change. Амплификацию проводили с использованием Pfu полимеразы (ThermoFisher Scientific, США) по следующему протоколу: начальная денатурация при 95°C, 2 мин; амплификация, 15 циклов: денатурация при 95°C, 30 с; отжиг праймеров при 55°C, 1 мин; элонгация при 72°C, 7 мин; конечная элонгация при 72°C, 10 мин; охлаждение смеси до +4°C. В полученную после ПЦР смесь добавляли рестриктазу DpnI, (ThermoFisher Scientific) инкубировали при 37°C в течение 1 ч, и далее ее использовали для трансформации клеток *E. coli* DH5 $\alpha$ . В качестве матрицы использовали вектор pET-24a(+) с клонированным геном TEM-1 бета-лактамазы.

Периплазматическую фракцию бактерий *E. coli* BL21 (DE3), трансформированных плазмидным вектором pET-bla с полноразмерным геном, содержащим нативную сигнальную последовательность, кодирующую соответствующую бета-лактамазу, выделяли методом осмотического шока. Дальнейшую очистку ферментов проводили методом анионообменной хроматографии (для очистки бета-лактамаз CTX-M типа использовали катионообменную хроматографию) [11].

Активность бета-лактамаз определяли в реакции гидролиза хромогенного субстрата CENTA, (Merck, Darmstadt, Германия) по методу, описанному в работе [13]. Образование окрашенного продукта регистрировали при длине волны 405 нм ( $\Delta\epsilon_{405} = 6400 \text{ M}^{-1} \times \text{cm}^{-1}$ ) на спектрофотометре UV-1602 (Shimadzu, Япония) при 25°C. Фракции, содержащие чистый рекомбинантный препарат, хранили на –20°C без потери активности как минимум в течение года. Бактериальные штаммы *E. coli* – продуценты бета-лактамаз хранили на –75°C в LB среде, содержащей 15% глицерина.

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Создана гетерологическая система экспрессии в клетках *E. coli* генов бактериальных ферментов бета-лактамаз [10–12]. Для получения рекомбинантных препаратов  $\beta$ -лактамаз в растворимой и активной форме был выбран метод экспрессии в

бактериальную периплазму, окислительный потенциал которой способствует формированию стабильных дисульфидных связей. Для этой цели был создан экспрессионный вектор pET-bla, содержащий ген устойчивости к канамицину в качестве селективного маркера, что позволяет избежать интерференции с собственной активностью  $\beta$ -лактамаз, определяющей устойчивость к ампициллину. Полноразмерный ген соответствующей  $\beta$ -лактамазы, содержащий нативную сигнальную последовательность, обеспечивающую транспорт синтезированного белка в периплазму, был клонирован под контролем T7 промотора. Стоит отметить, что при одинаковых условиях культивирования, индукции, выделения и очистки периплазматических фракций, выход очищенного рекомбинантного препарата составлял от 10 до 25 мг с 1 л культуры клеток *E. coli* в зависимости от конкретного образца  $\beta$ -лактамазы.

С использованием описанных в статьях [10–12] генно-инженерных и биохимических методов получены и выделены в гомогенном состоянии 35 вариантов бета-лактамаз, относящихся к молекулярным классам А и В (табл. 1).

Из представленных в табл. 1 ферментов 33 варианта относятся к бета-лактамазам молекулярного класса А TEM и CTX-M типам, являющихся наиболее распространенными среди патогенных бактерий-возбудителей инфекционных заболеваний [5]. Из них 10 ферментов TEM типа и все ферменты CTX-M типа относятся к фенотипу 2be и являются бета-лактамазами расширенного спектра (БЛРС), гидролизующими все пенициллины и цефалоспорины.

Коллекция бета-лактамаз TEM типа включает мутантные формы, имеющие различные единичные мутации (ключевые и вторичные) и их комбинации. К ключевым относятся замены, обеспечивающие расширение спектра гидролизующих антибиотиков (E104K, R164S, E240K) и устойчивость к ингибиторам (M68V, R244S, R244C, N275D). К вторичным заменам относятся Q39K, M182T, T265M.

В коллекции присутствуют два варианта металло-бета-лактамаз молекулярного класса В (VIM-4, NDM-1). Металло-бета-лактамазы класса В характеризуются активностью в отношении всех групп бета-лактаманых антибиотиков, за исключением монобактамов. Эти ферменты не чувствительны к ингибиторам сериновых бета-лактамаз класса А. Особенностью бета-лактамазы NDM-1 является то, что на плаزمиде, несущей ее ген, располагается комплекс интегрона класса 1, содержащий гены резистентности к другим антибиотикам (например, гены других бета-лактамаз, ген эритромицинэстеразы (устойчивость к макролидам), ген 16S метилазы (устойчивость к аминогликозидам) [14]. Присутствие генов других БЛРС обуславливает резистентность к азтреона-

**Таблица 1.** Коллекция рекомбинантных форм бета-лактамаз  
**Table 1.** Collection of recombinant forms of beta-lactamases

№	Название субтипа бета-лактамазы	Фенотип	Замена	
			ключевая	сопутствующая
БЛТ-1	ТЕМ-1	<i>2b</i>	—	—
БЛТ-2	ТЕМ-2	<i>2b</i>		<i>Gln39Lys</i>
БЛТ-3	ТЕМ-34	<i>2br</i>	<i>Met69Val</i>	—
БЛТ-4	ТЕМ-171	<i>2b</i>	—	<i>Val84Ile</i>
БЛТ-5	ТЕМ-17	<i>2be</i>	<i>Glu104Lys</i>	—
БЛТ-6	ТЕМ-12	<i>2be</i>	<i>Arg164Ser</i>	—
БЛТ-7	ТЕМ-30	<i>2br</i>	<i>Arg244Ser</i>	—
БЛТ-8	ТЕМ-31	<i>2br</i>	<i>Arg244Cys</i>	—
БЛТ-9	ТЕМ-18	<i>2be</i>	<i>Glu104Lys</i>	<i>Gln39Lys</i>
БЛТ-10	ТЕМ-44	<i>2br</i>	<i>Arg244Ser</i>	<i>Gln39Lys</i>
БЛТ-11	ТЕМ-65	<i>2br</i>	<i>Arg244Cys</i>	<i>Gln39Lys</i>
БЛТ-12	ТЕМ-160	<i>2br</i>	<i>Met69Val</i>	<i>Gln39Lys</i>
БЛТ-13	ТЕМ-7	<i>2be</i>	<i>Arg164Ser</i>	<i>Gln39Lys</i>
БЛТ-14	ТЕМ-129	<i>2be</i>	<i>Arg164Ser+Glu104Lys</i>	<i>Gln39Lys</i>
БЛТ-15	ТЕМ-135	<i>2b</i>	—	<i>Met182Thr</i>
БЛТ-16	ТЕМ-191	<i>2be</i>	<i>Glu240Lys</i>	—
БЛТ-17	ТЕМ-168	<i>2b</i>	—	<i>Thr265Met</i>
БЛТ-18	ТЕМ-102	<i>2be</i>	<i>Arg164Ser</i>	<i>Thr265Met</i>
БЛТ-19	ТЕМ-74	<i>2br</i>	<i>Arg244Ser</i>	<i>Thr265Met</i>
БЛТ-20	—	—	<i>Glu104Lys</i>	<i>Thr265Met</i>
БЛТ-21	—	—	<i>Glu240Lys</i>	<i>Thr265Met</i>
БЛТ-22	ТЕМ-84	<i>2br</i>	<i>Asn276Asp</i>	—
БЛТ-23	—	—	<i>Pro167Gly</i>	—
БЛТ-24	—	—	<i>Pro167Thr</i>	—
БЛТ-25	—	—	<i>Pro174Asp</i>	—
БЛТ-26	—	—	<i>Pro174Leu</i>	—
БЛТ-27	ТЕМ-165	<i>2be</i>	<i>Arg164Ser</i>	<i>Met182Thr</i>
БЛТ-28	—	—	<i>Trp165Arg</i>	—
БЛТ-29	—	—	<i>Trp165Gly</i>	—
БЛТ-30	—	—	<i>Trp165Leu</i>	—
БЛС-1	СТХ-М-2	<i>2be</i>	—	—
БЛС-2	СТХ-М-116	<i>2be</i>	—	—
БЛС-3	СТХ-М-169	<i>2be</i>	—	—
БЛВ-1	VIM-4	<i>3a</i>	—	—
БЛН-1	NDM-1	<i>3a</i>	—	—

**Таблица 2.** Паспорт рекомбинантного штамма-продуцента бета-лактамазы TEM-1  
**Table 2.** Passport of recombinant strain producing beta-lactamase TEM-1

Название продуцента	Рекомбинантный штамм <i>Escherichia coli</i> – продуцент бета-лактамазы TEM-1
Номер штамма в коллекции	CLEE-BLA-1 (БЛТ-1)
Таксономия штамма	Семейство: <i>Enterobacteriaceae</i> ; Род: <i>Escherichia</i> Вид: <i>Escherichia coli</i>
Способ получения	Рекомбинантный штамм, полученный путем трансформации компетентных клеток <i>E. coli</i> BL21(DE3) плазмидным вектором pET-24 с клонированным геном бета-лактамазы TEM-1
Генетические особенности штамма	<p>Генотип клеток BL21(DE3): <i>E. coli</i> str. B F<sup>-</sup> <i>ompT gal dcm lon hsdS<sub>B</sub>(r<sub>B</sub><sup>-</sup>m<sub>B</sub><sup>-</sup>) λ(DE3 [lacI lacUV5-T7p07 ind1 sam7 nin5]) [malB<sup>+</sup>]<sub>K-12</sub>(λ<sup>S</sup>) (Novagen, США).</i></p> <p>Полноразмерный ген бета-лактамазы TEM-1 (<i>bla</i>), кодирующий целевой фермент с сигнальной последовательностью, клонирован в pET-24 по сайтам NdeI/NotI под контролем промотора фага T7; содержит ген устойчивости к канамицину.</p> <div style="text-align: center;"> </div> <p>Транслированная последовательность бета-лактамазы TEM-1:  <u>MSIQHFRVALIPFFAAFCCLPVFAHPETLVKVKDAEDQLGARVGYIELDLNSGKILESFRPEERFPMMSTFKVLLCGAVLSRVDAGQEQLGRRIHYSQNDLVEYSPVTEKHLTDG</u>  <u>MTVRELCSAAITMSDNTAANLLLTIGGPKELTAFLHNMGDHSVTRLDRWEPELNE</u>  <u>AIPNDERDITMPAAMATTLRKLTLGELLTLASRQQLIDWMEADKVAGPLLRSA</u>  <u>PAGWFIADKSGAGERGSRGIIAALGPDGKPSRIVVIYTTGSQATMDERNRQIAEI-</u>  <u>GASLIKHW</u></p> <p>*—сигнальная последовательность обозначена подчёркиванием</p>
Характеристика продукта, синтезируемого штаммом	TEM-1 – сериновая бета-лактамаза широкого спектра молекулярного класса А; Функциональная группа: 2b Мутации, делеции, инверсии: нет
Условия культивирования штамма; выделение и очистка рекомбинантной бета-лактамазы:	Питательная LB среда с канамицином (50 мкг/мл): бактотриптон 10 г/л, дрожжевой экстракт 5 г/л, NaCl 5 г/л, NaOH до pH 7.5. Индуктор: изопропил-β-D-1-тиогалактопиранозид (0.1 мМ). Условия культивирования: 37°C в аэробных условиях. Продолжительность культивирования: 3–4 ч при 30°C после индукции. Выделение, очистка и определение ферментативной активности бета-лактамаз осуществляется согласно методикам, описанным в работах [9–11].
В каком виде предоставляется штамм	Культура клеток в LB-среде с 15% содержанием глицерина Оптическое поглощение при 600 нм: ~ 0.7 единиц. Условия длительного хранения: в полипропиленовых пробирках при –80°C.
Сведения о безопасности штамма	Штамм является непатогенным для человека. Работа со штаммом не требует специальных мер предосторожности. Штамм содержит гены антибиотикорезистентности.

му, который не гидролизует бета-лактамазами NDM типа. Совместная экспрессия этих генов приводит к мультирезистентности или даже пан-резистентности бактерий ко всем известным антибиотикам.

Каждый образец коллекции имеет индивидуальный паспорт штамма, пример которого представлен в табл. 2.

Ряд рекомбинантных бета-лактамаз (9 субтипов) из настоящей коллекции ранее был использован для комплексного изучения каталитических свойств и стабильности ферментов TEM типа, имеющих единичные ключевые (M69V, E104K, R164S) и вторичные мутации (Q39K), а также их сочетания [11]. Проведенные исследования позволили установить молекулярные основы стабилизирующей роли “вторичных” или “компенсационных” мутаций, что является необходимым для понимания взаимного влияния единичных и множественных мутаций на структуру и свойства бета-лактамаз [15]. Также образцы рекомбинантных ферментов из данной коллекции были использованы для скрининга новых аллостерических ингибиторов бета-лактамаз на основе производных феноксианилина [12].

Созданная коллекция продуцентов бета-лактамаз включена в состав Депозитария живых систем “Ноев Ковчег” МГУ имени М.В. Ломоносова ([https://depo.msu.ru/module/collectionpublic?open-params=\[open-id=134374773\]](https://depo.msu.ru/module/collectionpublic?open-params=[open-id=134374773])), акроним коллекции — БЛТ. Эта коллекция может быть использована для изучения комплексного взаимного влияния единичных и множественных мутаций на структуру и свойства бета-лактамаз, а также для скрининга новых антибактериальных препаратов и ингибиторов *in vitro* для преодоления антибиотикорезистентности.

#### ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа по созданию коллекции выполнена в рамках госзадания химического факультета по антибиотикорезистентности бактерий (регистрационный номер ЦИТИС 123032300028-0).

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. *Bonomo R.A.*  $\beta$ -Lactamases: A Focus on Current Challenges. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.*, 2017, 7(1), 1–16. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a025239>
2. *Bush K.* Past and Present Perspectives on  $\beta$ -Lactamases. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2018, 62(10):e01076-18. <https://doi.org/10.1128/AAC.01076-18>
3. *Klein E.Y., van Boeckel T.P., Martinez E.M., Pant S., Gandra S., Levin S.A., Goossens H., Laxminarayan R.* Global increase and geographic convergence in antibiotic consumption between 2000 and 2015. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2018, 115(15), E3463–E3470. <https://doi.org/10.1073/pnas.1717295115>
4. *Ambler R.P.* The structure of beta-lactamases. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.*, 1980, 289(1036), 321–331. <https://doi.org/10.1098/rstb.1980.0049>
5. *Bush K.* Proliferation and significance of clinically relevant  $\beta$ -lactamases. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 2013, 1277, 84–90. <https://doi.org/10.1111/nyas.12023>
6. *Huynen C., Filée P., Matagne A., Galleni M., Dumoulin M.* Class A  $\beta$ -lactamases as versatile scaffolds to create hybrid enzymes: applications from basic research to medicine. *Biomed. Res. Int.*, 2013, 827621. <https://doi.org/10.1155/2013/827621>
7. *Crasson O., Rhazi N., Jacquin O., Freichels A., Jérôme C., Ruth N., Galleni M., Filée P., Vandevenne M.* Enzymatic functionalization of a nanobody using protein insertion technology. *Protein Eng. Des. Sel.*, 2015, 28(10), 451–460. <https://doi.org/10.1093/protein/gzv020>
8. *Vandevenne M., Dondelinger M., Yunus S., Freischels A., Freischels R., Crasson O., Rhazi N., Bogaerts P., Galleni M., Filée P.* The Use of a  $\beta$ -lactamase-based Conductimetric Biosensor Assay to Detect Biomolecular Interactions. *J. Vis. Exp.*, 2018, 132, 55414. <https://doi.org/10.3791/55414>
9. *Engelen W., Merckx M.* DNA-Specific Biosensors Based on Intramolecular  $\beta$ -Lactamase-Inhibitor Complex Formation. *Methods Mol. Biol.*, 2017, 1596, 179–194. [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-6940-1\\_12](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-6940-1_12)
10. *Grigorenko V.G., Rubtsova M. Yu., Filatova E.V., Andreeva I.P., Mistryukova E.A., Egorov A.M.*, Cloning and expression of NDM-1 metallo- $\beta$ -lactamase gene and study of the catalytic properties of the recombinant enzyme. *Moscow Univ. Chem. Bull.*, 2016, 71(2), 104–109. <https://doi.org/10.3103/s0027131416020048>
11. *Grigorenko V., Uporov I., Rubtsova M., Andreeva I., Shcherbinin D., Veselovsky A., Serova O., Ulyashova M., Ishtubaev I., Egorov A.* Mutual influence of secondary and key drug-resistance mutations on catalytic properties and thermal stability of TEM-type  $\beta$ -lactamases. *FEBS Open Bio.*, 2017, 8(1), 117–129. <https://doi.org/10.1002/2211-5463.12352>
12. *Grigorenko V.G., Andreeva I.P., Rubtsova M. Yu., Deygen I.M., Antipin R.L., Majouga A.G., Egorov A.M., Beshnova D.A., Kallio J., Hackenberg C., Lamzin V.S.* Novel non- $\beta$ -lactam inhibitor of  $\beta$ -lactamase TEM-171 based on acylated phenoxyaniline. *Biochimie*, 2017, 132, 45–53. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2016.10.011>
13. *Bebrone C., Moali C., Mahy F., Rival S., Docquier J.D., Rossolini G.M., Fastrez J., Pratt R.F., Frère J.M., Galleni M.* CENTA as a chromogenic substrate for studying beta-lactamases. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2001, 45(6), 1868–1871. <https://doi.org/10.1128/AAC.45.6.1868-1871.2001>
14. *Groundwater P.W., Xu S., Lai F., Varadi L., Tan J. Perry J.D., Hibbs D.E.* New Delhi metallo- $\beta$ -lactamase-1: structure, inhibitors and detection of producers. *Future Med. Chem.*, 2016, 8(9), 993–1012. <https://doi.org/10.4155/fmc-2016-0015>
15. *Egorov A., Ulyashova M., Rubtsova M.* Impact of Key and Secondary Drug Resistance Mutations on Structure and Activity of  $\beta$ -Lactamases. *Antibiotic Drug Resistance* (eds J.-L. Capelo-Martínez and G. Igrejas), John Wiley & Sons Inc., NY, USA, 2020, 121–140. <https://doi.org/10.1002/9781119282549.ch6>

## A Collection of Recombinant Beta-Lactamases for Antibacterial Drug Screening

V. G. Grigorenko<sup>a, #</sup>, O. V. Serova<sup>b</sup>, I. P. Andreeva<sup>a</sup>, M. Yu. Rubtsova<sup>a</sup>, and A. M. Egorov<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Chemistry Department, M.V. Lomonosov Moscow State University, Moscow, 119991 Russia

<sup>b</sup>Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Moscow, 117997 Russia

<sup>#</sup>e-mail: vitaly.grigorenko@gmail.com

**Abstract**—Using genetic engineering approach, a collection of recombinant *E. coli* strains-producers of bacterial enzymes beta-lactamases has been created, which relates to both existing natural analogues and mutant forms of natural enzymes. Currently, the collection includes beta-lactamases of the TEM (molecular class A), CTX-M (molecular class A), VIM (molecular class B), NDM (molecular class B) types. A set of recombinant beta-lactamases can be used for screening new antibacterial drugs and inhibitors *in vitro*. The collection of beta-lactamase producers is included in the National Depository Bank of Live Systems “Noah’s Ark” of the M.V. Lomonosov Moscow State University.

**Keywords:** recombinant beta-lactamases, mutations, bacterial resistance to antibiotics