

**МИКРОБИОМ КИШЕЧНИКА ЧЕЛОВЕКА – РЕЗЕРВУАР
АМИНОГЛИКОЗИД-N-АЦЕТИЛТРАНСФЕРАЗ – ГЕНОВ
ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ**

© 2022 г. М. Г. Алексеева¹ *, Н. В. Захаревич¹, А. В. Ратькин¹, В. Н. Даниленко¹

¹Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук, Москва, 119991 Россия

*e-mail: Alekseevavg@mail.ru

Поступила в редакцию 22.03.2022 г.

После доработки 31.03.2022 г.

Принята к публикации 12.04.2022 г.

Микробиом кишечника человека представляет собой сложную экосистему, играющую ключевую роль в поддержании общего гомеостаза, и является динамическим резервуаром генов устойчивости к антибиотикам, которые могут передаваться между бактериями в смешанных популяциях. Одними из основных ферментов, осуществляющих ацетилирование широкого спектра субстратов, являются аминогликозид-N-ацетилтрансферазы (ААС). Ранее у *Enterococcus* и *Staphylococcus* был идентифицирован и охарактеризован бифункциональный фермент ААС(6')-Ie/APH(2'')-Ia, являющийся клинически важным. В рамках данного исследования в секвенированных геномах штаммов, относящихся к *Bacteroides* и *Lactobacillus*, выявлены гены, кодирующие ААС(3). В геномах штаммов, относящихся к большинству видов *Bacteroides*, *Enterococcus* и *Lactobacillus*, выявлены гены, кодирующие Eis (от англ. Enhanced intracellular survival). Последовательности всех выявленных ААС(3) и Eis не имеют сходства с последовательностями известных ферментов. ААС(3) и Eis у данных бактерий могут иметь разные функции в организме человека, в том числе участвовать в ацетилировании пептидов, белков и других субстратов.

Ключевые слова: микробиом кишечника человека, *Bacteroides*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, аминогликозид-N-ацетилтрансферазы (ААС), белки Eis (белки, повышающие внутриклеточную выживаемость).

DOI: 10.31857/S0016675822090028

Микробиом кишечника человека представляет собой сложную экосистему, играющую ключевую роль в поддержании общего гомеостаза, и является динамическим резервуаром генов устойчивости к антибиотикам. В кишечнике здоровых людей обнаружено около 500 видов микроорганизмов, из них 66 видов являются доминирующими [1, 2]. Лечение с использованием антибактериальных агентов оказывает значительное влияние на резистом кишечника и приводит к увеличению горизонтального переноса и селекции устойчивых форм. Мощный методологический подход к изучению кишечной микробиоты обеспечивает современный уровень технологии секвенирования геномов [3]. Сравнение последовательностей генов устойчивости показывает, что комменсальные кишечные бактерии могут быть резервуарами генов устойчивости для других видов бактерий (в том числе патогенных для человека) [4].

Устойчивость к аминогликозидным антибиотикам обусловлена наличием в геномах бактерий модифицирующих ферментов, относящихся к трем

подклассам: аминогликозид-N-ацетилтрансферазам (ААС), аминогликозиднуклеотидилтрансферазам (АНТ) и аминогликозидфосфотрансферазам (APH). Аминогликозид-N-ацетилтрансферазы (ААС) катализируют ацетилирование групп NH₂ в молекуле аминогликозидов с использованием ацетилкофермента А. В зависимости от аминокислотной группы антибиотика, модифицируемой ферментом, различают четыре подсемейства ААС: ААС(1), ААС(3), ААС(2') и ААС(6') [5–7].

Наиболее распространенными и исследованными являются ферменты ААС(6'), они присутствуют у грамотрицательных и грамположительных бактерий. Гены, кодирующие эти ферменты, были обнаружены на плаزمиде и хромосомах и/или являются частью мобильных генетических элементов [6, 8]. Ферменты ААС(6') могут существовать в виде слитых белков, занимающих N- или C-концевую область композитного белка. Интересно, что белки, содержащие ферменты подкласса ААС(6')-I, были обнаружены слитыми с APH, ANT или другими ААС. Наиболее хорошо

исследован фермент AAC(6')-Ie/APH(2'')-Ia, идентифицированный у *Enterococcus faecalis* и стафилококков [9].

Недавно у *Mycobacterium tuberculosis* был идентифицирован белок, повышающий внутриклеточную выживаемость микобактерий в макрофагах, названный Eis (от англ. Enhanced intracellular survival), который является новым классом AAC, контролирующим выработку провоспалительных цитокинов и способным ацетилировать несколько аминокислот различных аминогликозидных антибиотиков, используя не только ацетил-КоА, но и другие производные этого кофактора [10].

Аминогликозид-N-ацетилтрансферазы, и в частности AAC и Eis, относятся к moonlighting-белкам, т.е. проявляют полифункциональные свойства. Так, у микобактерий AAC вносят частичный вклад в устойчивость к аминогликозидам и связаны с другими бактериальными функциями и способствуют ацетилированию белков клеточной стенки и пептидогликана [10]. Белки Eis обладают способностью ацетилировать не только антибиотики, но и широкий спектр пептидов и белков, включая эукариотические гистоны (в том числе N3-концевой пептид гистона человека H3) [11].

Eis у бактерий представляют собой новый тип арилалкиламин-N-ацетилтрансфераз, поскольку они способны ацетилировать арилалкиламины (например, гистамин, дофамин, октопамин, тирамин, триптамин, норэпинефрин, метокситриптамин, серотонин и 5-гидрокситриптамин), которые являются биологически активными соединениями с различными физиологическими функциями в нервной, нейроэндокринной и иммунной системах человека. Установлено, что Eis *M. tuberculosis* ацетилирует гистамин и октопамин, а Eis *M. smegmatis* использует тирамин и октопамин в качестве субстратов. Ферменты Eis обнаружены также у других бактерий, в основном грамположительных — у *Bacillales*, *Lactobacillales* и *Clostridiales*. У многих бактерий также аннотированы белки с другими функциями, содержащие домены Eis [12].

Известно, что бактерии-комменсалы способны продуцировать различные классы веществ, в том числе ферменты с нейромодулирующей и иммуномодулирующей активностью, поэтому очевидно, что ферменты AAC (в том числе Eis) у бактерий-комменсалов могут играть важную роль во взаимодействиях с организмом хозяина. Однако в современной литературе отсутствуют публикации по идентификации и изучению функций данных ферментов у бактерий-комменсалов микробиоты кишечника человека.

Цель настоящего исследования — биоинформатический анализ распространения генов *aac* в секвенированных геномах основных таксонов бактерий-комменсалов микробиоты кишечника человека *Enterococcus*, *Bacteroides* и более деталь-

ный анализ для представителей рода *Lactobacillus*; сравнение выявленных генов между собой и поиск ближайших гомологов из геномов других бактерий (в том числе патогенных).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Биоинформатический анализ. Последовательности генов и белков аминогликозид-N-ацетилтрансфераз *Bacteroides*, *Enterococcus* и *Lactobacillus*, обсуждаемые в статье, были получены из базы данных NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). Для сравнения их с известными по литературе использовали базу данных неповторяющихся белковых последовательностей (“Non-redundant protein sequences”, NCBI) и программы Blastp [13] и Clustal Omega [14], последнюю для множественного выравнивания белковых последовательностей.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Анализ распространения генов аминогликозид-N-ацетилтрансфераз у Bacteroides

Род *Bacteroides* — одна из преобладающих групп в желудочно-кишечном тракте (ЖКТ) человека. Важность *Bacteroides* дополнительно иллюстрируется тем фактом, что этот род бактерий является наиболее стабильным компонентом желудочно-кишечной микробиоты с течением времени у здоровых взрослых людей.

Первый вид рода *Bacteroides* — *Bacteroides fragilis* был выделен в 1898 г. как человеческий патоген, связанный с аппендицитом. *B. fragilis* является частью нормальной микробиоты толстой кишки человека, однако нарушение поверхности слизистой оболочки способствует распространению *B. fragilis* в кровотоке, что приводит к клинически значимой инфекции [15].

Наиболее часто и в заметном количестве в кишечнике здорового человека обнаруживают следующие виды *Bacteroides*: *B. vulgatus* (*Phocaeicola vulgatus*), *B. dorei* (*Phocaeicola dorei*), *B. uniformis* и *B. ovatus* [16].

Биоинформатический анализ секвенированных геномов штаммов *Bacteroides* для данных видов показал наличие генов, кодирующих аминогликозид-N-ацетилтрансферазы, относящиеся к двум классам: AAC(3) и Eis (табл. 1).

Штаммы, относящиеся к видам *Phocaeicola dorei*, *Bacteroides ovatus* и *Phocaeicola vulgatus*, содержат только по одному гену, кодирующему ацетилтрансферазы Eis. Штаммы, относящиеся к видам *Bacteroides uniformis* и *Bacteroides fragilis*, содержат одновременно по одному гену, кодирующему ацетилтрансферазы AAC(3), и по одному гену, кодирующему ацетилтрансферазы Eis, расположенные в разных генных кластерах.

Таблица 1. Наличие аминокликозид-N-ацетилтрансфераз у видов рода *Bacteroides* (*Phocaeicola*)

Вид	N-ацетилтрансфераза семейства AAC(3)			Eis (N-ацетилтрансфераза семейства GNAT)		
	название штамма	размер, а/к	ссылка на GenBank	название штамма	размер, а/к	ссылка на GenBank
<i>Phocaeicola dorei</i>	Отсутствуют гены, кодирующие AAC			RJX1045	336	TDB22695 E1J03_20575
<i>Bacteroides fragilis</i>	3783N1-6	305	EYB10660 M119_1197	3783N1-6	339	EYB10962 M119_0490
	S24L34	300	EYA78531 M134_4032	S24L34	339	EYA82370 M134_0485
	CL03T12C07	283	QUU02560 INE73_00840	CL03T12C07	339	QUU05501 INE73_03854
<i>Bacteroides ovatus</i>	Отсутствуют гены, кодирующие AAC			am_0171	338	RYT75558 EAJ07_03790
<i>Bacteroides uniformis</i>	AM50-4	308	RGZ49523 DW988_07985	AM50-4	338	RGZ50150 DW988_06155
<i>Phocaeicola vulgatus</i>	Отсутствуют гены, кодирующие AAC			ATCC 8492	336	PQL54778 C5Z04_02675

Штаммы, относящиеся к виду *Bacteroides fragilis*, по наличию гена, кодирующего AAC(3), можно разделить на три группы, кодирующие ферменты размером 305, 300 и 283 а/к. Аминокислотные последовательности Eis из разных штаммов *Bacteroides fragilis* идентичны.

Мы сравнили между собой аминокислотные последовательности Eis из пяти различных видов *Bacteroides*: *Phocaeicola dorei*, *B. fragilis*, *B. ovatus*, *B. uniformis* и *Phocaeicola vulgatus*. Идентичность ацетилтрансферазы Eis из *P. dorei* и из *P. vulgatus* составила 97%. Идентичности ацетилтрансфераз из *B. fragilis*, *B. ovatus* и *B. uniformis* лежат в диапазоне от 55 до 60%. В то же время идентичность между последовательностями ацетилтрансфераз из видов *Phocaeicola* и *Bacteroides* не превышает 43%.

При поиске ацетилтрансфераз, сходных с ацетилтрансферазами из *P. dorei* и *P. vulgatus*, наиболее близкой (идентичность 98–99%) оказалась ацетилтрансфераза из *Niabella* sp. и с более низким процентом идентичности (39–45) были ацетилтрансферазы из видов *Oscillospiraceae bacterium*, *Catenibacterium mitsuokai*, *Escherichia coli* и *Enterobacter hormaechei*.

Niabella sp. также относится к группе *Bacteroides*, *Oscillospiraceae bacterium* – анаэробная бактерия из микробиома человека, *Catenibacterium mitsuokai* – грамположительная анаэробная бактерия, выделенная из фекалий человека, относится к подтипу *Clostridium*. Бактерии *Escherichia coli* и *Enterobacter hormaechei* являются условно-патогенными для человека.

Для ацетилтрансфераз из *B. fragilis*, *B. ovatus* и *B. uniformis* наиболее близкими были те же пять ацетилтрансфераз, только идентичность была чуть выше для четырех (53–68%), а для ацетилтрансферазы из *Niabella* sp. – ниже (42%). При этом последовательность ацетилтрансферазы из *E. hormaechei* была идентична последовательности ацетилтрансферазы из *B. ovatus*, а последовательность ацетилтрансферазы из *C. mitsuokai* была идентична последовательности ацетилтрансферазы из *B. uniformis*.

Анализ распространения генов аминокликозид-N-ацетилтрансфераз у *Enterococcus*

Энтерококки – многочисленная группа условно-патогенных бактерий, в микробиоте ЖКТ человека в основном встречаются виды *Enterococcus faecium* и *Enterococcus faecalis* [17].

Ранее у *Enterococcus* был идентифицирован и охарактеризован бифункциональный фермент AAC(6')-Ie/APH(2")-Ia, являющийся клинически важным, ответственным за высокий уровень устойчивости к аминокликозидным антибиотикам. Этот уникальный фермент с широкой субстратной специфичностью содержит N-концевой домен AAC(6') и C-концевой домен APH(2"); оба домена могут функционировать независимо и посредством ацетилирования и/или фосфорилирования инактивировать большинство аминокликозидных антибиотиков [9].

Нами проведен биоинформатический анализ последовательностей секвенированных геномов штаммов *E. faecalis* и *E. faecium*.

Анализ показал, что все штаммы *E. faecalis* содержат ген, кодирующий бифункциональный фермент AAC(6')-Ie/APH(2")-Ia, а также по два гена, кодирующих аминокликозид-N-ацетилтрансферазы класса Eis. Например, геном штамма *E. faecalis* 1207/14 содержит гены, кодирующие: бифункциональный фермент AAC(6')-Ie/APH(2")-Ia размером 479 аминокислот (а/к) (GenBank: QWW17314.1), Eis размером 403 а/к (GenBank: QWW17706.1) и Eis размером 406 а/к (GenBank: QWW15801.1). Все гены, обнаруженные в штаммах *E. faecalis*, расположены в разных генных кластерах.

Анализ геномов *E. faecium* показал, что все штаммы содержат ген, кодирующий бифункциональный фермент AAC(6')-Ie/APH(2")-Ia, а также один ген, кодирующий AAC(6), и два гена, кодирующих Eis. Все обнаруженные гены расположены в разных генных кластерах в геномах штаммов *E. faecium*. Так, например, геном штамма *E. faecium* U-1313438 содержит гены, кодирующие: бифункциональный фермент AAC(6')-Ie/APH(2")-Ia размером 479 а/к (GenBank: KGQ77505.1), AAC(6) размером 182 а/к (GenBank: KGQ77679.1), Eis размером 393 а/к (GenBank: KGQ77148.1) и Eis размером 406 а/к (GenBank: KGQ76559.1).

Аминокислотные последовательности бифункциональных ферментов AAC(6')-Ie/APH(2")-Ia штаммов *E. faecium* и *E. faecalis* оказались идентичны. Последовательность дополнительного AAC(6) *E. faecium* не имеет сходства с последовательностью бифункционального фермента AAC(6').

Аминокислотные последовательности бифункциональных ферментов AAC(6')-Ie/APH(2")-Ia *E. faecium* и *E. faecalis* также оказались практически идентичны (99%) последовательностям бифункциональных ферментов AAC(6')-Ie/APH(2")-Ia, идентифицированным у патогенных бактерий рода *Staphylococcus*.

Анализ распространения генов аминокликозид-N-ацетилтрансфераз у *Lactobacillus*

Лактобациллы — это широко распространенные бактерии, включающие многие виды и являющиеся одними из наиболее важных компонентов кишечной микробиоты человека, включающие множество пробиотических штаммов, обеспечивающих защиту кишечной флоры от патогенов и стимуляцию иммунной системы. Их широкое использование в пищевой и фармацевтической промышленности продиктовано длительной историей безопасного применения. Однако наличие генов вирулентности и устойчивости к антибиотикам, а также их потенциальная передача патогенным

микроорганизмам представляют риск, который следует учитывать [18].

Известно, что лактобациллы более устойчивы к аминокликозидам и ванкомицину и чувствительны к эритромицину, бета-лактамам антибиотикам, хлорамфениколу и тетрациклину. Результаты анализа бактериальных геномов показали наличие у *Lactobacillus* генов устойчивости к тетрациклину *tet(W)*, наибольшее количество генов устойчивости к антибиотикам было перенесено с мобильными генетическими элементами [19].

Проведенный нами биоинформатический анализ секвенированных геномов штаммов лактобацилл показал наличие генов, кодирующих аминокликозид-N-ацетилтрансферазы, относящиеся к двум классам: AAC(3) и Eis (табл. 2). Идентичность последовательностей AAC из разных штаммов одного вида составляет 98–100%.

Штаммы, относящиеся к видам *L. acidophilus*, *L. crispatus*, *L. gasseri*, *L. helveticus*, *L. johnsonii*, *L. paragasseri* и *L. ultunensis*, содержат одновременно по одному гену, кодирующему ацетилтрансферазы AAC(3), и по одному гену, кодирующему ацетилтрансферазы Eis. Данные гены расположены в разных генных кластерах.

Штаммы, относящиеся к виду *L. jensenii*, содержат только по одному гену, кодирующему ацетилтрансферазы AAC(3). Штаммы, относящиеся к видам *L. casei*, *L. paracasei*, *L. plantarum*, *L. rhamnosus* и *L. sakei*, содержат только гены, кодирующие ацетилтрансферазы Eis, причем штаммы *L. sakei* содержат два гена, кодирующих Eis размером 403 и 392 а/к.

Штаммы, относящиеся к видам *L. fermentum*, *L. reuteri*, *L. ruminis* и *L. salivarius*, не содержат генов, кодирующих аминокликозид-N-ацетилтрансферазы.

Для подсемейства AAC(3) было идентифицировано одиннадцать подклассов ферментов AAC(3)-I–AAC(3)-XI, гены которых были обнаружены в основном на плазидах или мобильных генетических элементах грамотрицательных клинических изолятов и у продуцентов аминокликозидных антибиотиков. Подкласс AAC(3)-V был исключен после подтверждения того, что единственный фермент в этой группе идентичен AAC(3)-II [5, 7].

Нами не было обнаружено сходства между рассматриваемыми в настоящей работе генами, кодирующими аминокликозид-N-ацетилтрансферазы класса AAC(3), и описанными ранее в литературе генами подсемейства AAC(3). Поэтому мы провели сравнение анализируемых аминокликозид-N-ацетилтрансфераз класса AAC(3) между собой, а также поиск наиболее похожих по аминокислотной последовательности ферментов по базе данных NCBI.

При сравнении ацетилтрансфераз друг с другом была выявлена довольно высокая консерва-

Таблица 2. Наличие аминокликозид-N-ацетилтрансфераз у лактобацилл

Лактобациллы	N-ацетилтрансфераза семейства AAC(3)			Eis (N-ацетилтрансфераза семейства GNAT)		
	название штамма	размер, а/к	ссылка на GenBank	название штамма	размер, а/к	ссылка на GenBank
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	DSM 20079	274	AVW87698 LA20079_08190	DSM 20079	388	AVW86996 LA20079_04400
<i>Lacticaseibacillus casei</i>	Отсутствуют гены, кодирующие AAC			DS1_13	405	PTU95687 DB330_06535
<i>Lactobacillus crispatus</i>	ATCC 33820	271	QWW28104 J6L97_05725	ATCC 33820	388	QWW29972 J6L97_04615
<i>Lactobacillus gasseri</i>	ATCC 33323	272	ABJ60414 LGAS_1039	ATCC 33323	386	ABJ59439 LGAS_0024
<i>Lactobacillus helveticus</i>	LMG 22465	268	GFP05459 LMG22465_14720	LMG 22465	388	GFP05532 LMG22465_15450
<i>Lactobacillus jensenii</i>	DSM 20557	269	KRM51187 FC45_GL000617	Отсутствуют гены, кодирующие аминокликозид-N-ацетилтрансферазу Eis		
<i>Lactobacillus johnsonii</i>	ATCC 33200	269	KRK56013 FC22_GL000158	ATCC 33200	387	KRK54121 FC22_GL000316
<i>Lacticaseibacillus paracasei</i>	Отсутствуют гены, кодирующие AAC			DTA72	405	MXI84121 GRZ59_10270
<i>Lactobacillus paragasseri</i>	JCM 11657	275	GIL32313 PGA11657_02420	JCM 11657	346	GIL32979 PGA11657_09080
<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	Отсутствуют гены, кодирующие AAC			90sk	393	KIN20067 SC12_09630
<i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i>	Отсутствуют гены, кодирующие AAC			K32	405	KFC37507 LRK_00405
<i>Latilactobacillus sakei</i>	Отсутствуют гены, кодирующие AAC			NBRC 3541	403	GEA76977 LSA01_10560
					392	GEA76583 LSA01_06620
<i>Lactobacillus ultunensis</i>	Kx293C1 (DSM 16048)	239	QQP29480 H4B44_05395	Kx293C1 (DSM 16048)	388	QQP29371 H4B44_04780

тивность последовательностей по всей длине (идентичность 70–75%). Исключением стала последовательность *L. jensenii* – при сравнении с другими анализируемыми последовательностями идентичность для нее не превысила 33%. Стоит также отметить, что идентичность между последовательностями видов *L. casei* и *L. paracasei* составила 99%.

При поиске наиболее близких по аминокислотной последовательности ацетилтрансфераз класса AAC(3) в других бактериальных родах наибольший процент идентичности был отмечен для последовательностей ацетилтрансфераз из видов *Bifidobacterium vespertilionis* и *Scardovia wiggisiae* – 41 и 42 соответственно. *B. vespertilionis* – данный вид

бифидобактерий выделен из микробиома млекопитающих. *Scardovia wiggisiae* – патогенная бактерия микробиома полости рта, тесно связанная с кариесом зубов.

Представители нового класса ацетилтрансфераз Eis – ферменты с многофункциональными свойствами, обнаружены относительно недавно и охарактеризованы лишь для ряда патогенных бактерий класса *Mycobacterium*, в том числе для *Mycobacterium tuberculosis*.

Сравнительный анализ ацетилтрансфераз Eis лактобацилл позволил разделить их на пять групп (на основании сходства аминокислотных последовательностей) (рис. 1). Ацетилтрансферазы *L. sakei*_1, *L. rhamnosus*, *L. casei* и *L. paracasei* до-

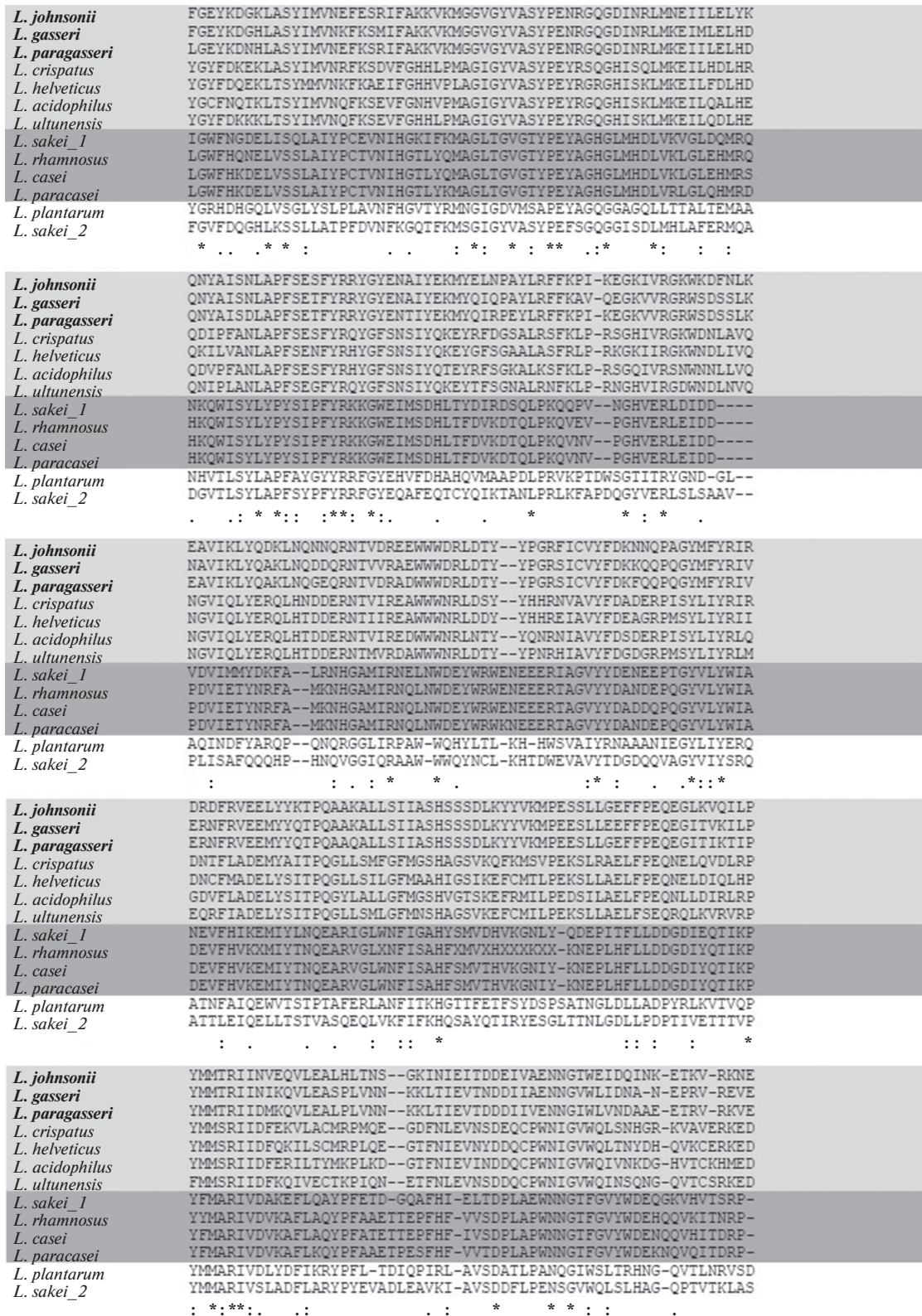


Рис. 1. Множественное выравнивание 13 аминокислотных последовательностей ацетилтрансфераз Eis лактобацилл. Предлагаемые группы выделены фоном, а подгруппы – полужирным шрифтом.

вольно сильно похожи друг на друга и отличаются от остальных, их можно выделить в отдельную группу. Следующие две группы ацетилтрансферазы можно рассматривать либо как самостоятельные, либо как подгруппы одной группы – это *L. johnsonii*, *L. gasseri*, *L. paragasseri* и *L. crispatus*, *L. helveticus*, *L. acidophilus*, *L. ultunensis* (одна из предполагаемых подгрупп выделена полужирным шрифтом). Две оставшиеся ацетилтрансферазы *L. plantarum* и *L. sakei_2* отличаются от всех остальных, но и между собой не так близки, чтобы относить их к одной группе. Сходства с изученными и описанными последовательностями Eis микробактерий найдено не было (идентичность <30% и выравнивание не по всей длине).

ОБСУЖДЕНИЕ

Ферменты с ацетилтрансферазной активностью представляют собой большой класс белков, широко распространенных у организмов из различных экосистем. Происхождение AAC можно проследить по микробным видам, представляющим огромный резервуар для новых, появляющихся ферментов устойчивости, которые в настоящее время недостаточно изучены. Присутствие антибиотик-модифицирующих AAC-ферментов в микробиоме человека необходимо учитывать при разработке новых лекарственных препаратов [18, 19].

Аминогликозид-N-ацетилтрансферазы патогенных бактерий человека зачастую способны проникать в кровяное русло и клетки человека, осуществляя ацетилирование широкого спектра субстратов (т.н. moonlighting-функции). Представители такого класса ацетилтрансфераз Eis – ферменты с многофункциональными свойствами, обнаружены и охарактеризованы относительно недавно и лишь для ряда патогенных бактерий класса *Mycobacterium*, в том числе для *M. tuberculosis*. В то же время первичный биоинформатический анализ показал, что гены, аннотированные как *eis*, широко представлены у других бактерий, в основном грамположительных – у *Bacillales*, *Lactobacillales* и *Clostridiales* [12]. Проведенный нами биоинформатический анализ показал, что у многих бактерий (в том числе бактерий микробиома человека) также аннотированы белки с другими функциями, содержащие домены Eis (неопубликованные данные).

В представленном исследовании был проведен анализ распространения генов аминогликозид-N-ацетилтрансфераз в секвенированных геномах основных таксонов бактерий комменсалов микробиоты кишечника человека. В геномах штаммов, относящихся к *Bacteroides* и *Lactobacillus*, выявлены гены, кодирующие AAC(3). В геномах штаммов, относящихся к большинству видов *Bacteroides*, *Enterococcus* и *Lactobacillus*, выявлены гены, кодирующие Eis.

Последовательности всех выявленных AAC(3) у штаммов *Bacteroides* и *Lactobacillus* не имеют сходства с последовательностями известных ферментов AAC(3)-I–AAC(3)-XI из грамтрицательных клинических изолятов и продуцентов аминокликозидных антибиотиков. Последовательности всех выявленных ферментов Eis у штаммов *Bacteroides*, *Enterococcus* и *Lactobacillus* не имеют сходства с последовательностями Eis патогенных бактерий (*M. tuberculosis*). Наибольшее сходство данные ферменты показывают с ферментами из других комменсальных и условно-патогенных бактерий микробиома человека и млекопитающих (например, с ацетилтрансферазами из *Enterococcus*).

Принимая во внимание тот факт, что бактерии микробиома способны продуцировать различные классы веществ, в том числе с нейромодулирующей и иммуномодулирующей активностью, ферменты AAC(3) и Eis у данных бактерий могут иметь разные функции в организме человека и участвовать в ацетилировании пептидов, белков и других субстратов. В связи с этим изучение функций выявленных AAC(3) и Eis ферментов у *Lactobacillus* и выяснение их возможной роли в коммуникации с организмом человека является темой дальнейших исследований.

Работа выполнена в рамках Государственного задания № 0092-2022-003; тема “Механизмы генетических процессов у микроорганизмов, растений, животных и человека”: “Микробиом кишечника человека: иммуномодулирующий и антиоксидантный потенциал”, подтема “Распространение и функции генов аминогликозид-N-ацетилтрансфераз в микробиоме почв и человека”.

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с использованием в качестве объекта животных.

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием в качестве объекта людей.

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Schloissnig S., Arumugam M., Sunagawa S. et al. Genomic variation landscape of the human gut microbiome // Nature. 2013. V. 493. № 7430. P. 45–50. <https://doi.org/10.1038/nature11711>
2. Rajilić-Stojanović M., de Vos W.M. The first 1000 cultured species of the human gastrointestinal microbiota // FEMS Microbiol. Rev. 2014. V. 38. № 5. P. 996–1047. <https://doi.org/10.1111/1574-6976.12075>
3. Heintz-Buschart A., Wilmes P. Human gut microbiome: function matters // Trends Microbiol. 2018. V. 26. № 7. P. 563–574. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2017.11.002>
4. Willmann M., El-Hadidi M., Huson D.H. et al. Antibiotic selection pressure determination through sequence-based metagenomics // Antimicrob. Agents.

- Chemother. 2015. V. 59. № 12. P. 7335–7345.
<https://doi.org/10.1128/AAC.01504-15>
5. Ramirez M.S., Tolmasky M.E. Aminoglycoside modifying enzymes // Drug. Resist. Updat. 2010. V. 13. № 6. P. 151–171.
<https://doi.org/10.1016/j.drup.2010.08.003>
 6. Ogawara H. Comparison of antibiotic resistance mechanisms in antibiotic-producing and pathogenic bacteria // Molecules. 2019. V. 24. № 19. P. 3430.
<https://doi.org/10.3390/molecules24193430>
 7. Favrot L., Blanchard J.S., Vergnolle O. Bacterial GCN5-related N-acetyltransferases: from resistance to regulation // Biochemistry. 2016. V. 55. № 7. P. 989–1002.
<https://doi.org/10.1021/acs.biochem.5b01269>
 8. Xu Z., Stogios P.J., Quail A.T. et al. Structural and functional survey of environmental aminoglycoside acetyltransferases reveals functionality of resistance enzymes // ACS Infect. Dis. 2017. V. 3. № 9. P. 653–665.
<https://doi.org/10.1021/acsinfecdis.7b00068>
 9. Frase H., Toth M., Vakulenko S.B. Revisiting the nucleotide and aminoglycoside substrate specificity of the bifunctional aminoglycoside acetyltransferase (6')-Ie/aminoglycoside phosphotransferase(2'')-Ia enzyme // J. Biol. Chem. 2012. V. 287. № 52. P. 43262–43269.
<https://doi.org/10.1074/jbc.M112.416453>
 10. Sanz-García F., Anoz-Carbonell E., Pérez-Herrán E. et al. Mycobacterial aminoglycoside acetyltransferases: A little of drug resistance, and a lot of other roles // Front. Microbiol. 2019. V. 10. P. 46.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00046>
 11. Houghton J.L., Biswas T., Chen W. et al. Chemical and structural insights into the regioversatility of the aminoglycoside acetyltransferase Eis // ChemBiochem. 2013. V. 14. № 16. P. 2127–2135.
<https://doi.org/10.1002/cbic.201300359>
 12. Pan Q., Zhao F.L., Ye B.C. Eis, a novel family of arylalkylamine N-acetyltransferase (EC 2.3.1.87) // Sci. Rep. 2018. V. 8. № 1. P. 2435.
<https://doi.org/10.1038/s41598-018-20802-6>
 13. Altschul S.F., Madden T.L., Schaffer A.A. et al. Gapped BLAST and PSI-BLAST: A new generation of protein database search programs // Nucl. Acids Res. 1997. V. 25. № 17. P. 3389–3402.
<https://doi.org/10.1093/nar/25.17.3389>
 14. Sievers F., Wilm A., Dineen D. et al. Fast, scalable generation of high-quality protein multiple sequence alignments using Clustal Omega // Mol. Syst. Biol. 2011. V. 7. P. 539.
<https://doi.org/10.1038/msb.2011.75>
 15. Elsaghir H., Reddivari A.K.R. Bacteroides Fragilis // 2021 Jun 4. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publ., 2022 Jan. PMID: 31971708.
 16. Lück R., Deppenmeier U. Genetic tools for the redirection of the central carbon flow towards the production of lactate in the human gut bacterium *Phocaeicola (Bacteroides) vulgates* // Appl. Microbiol. Biotechnol. 2022. V. 106. № 3. P. 1211–1225.
<https://doi.org/10.1007/s00253-022-11777-6>
 17. Shirvani-Rad S., Ejtahed H.S., Ettehad Marvasti F. et al. The role of gut microbiota-brain axis in pathophysiology of ADHD: A systematic review // Atten. Disord. 2022. V. 20. P. 10870547211073474. Online ahead of print.
<https://doi.org/10.1177/10870547211073474>
 18. Colautti A., Arnoldi M., Comi G. et al. Antibiotic resistance and virulence factors in lactobacilli: something to carefully consider // Food Microbiol. 2022. May. 103:103934.
<https://doi.org/10.1016/j.fm.2021.103934>
 19. Fatahi-Bafghi M., Naseri S., Alizehi A. Genome analysis of probiotic bacteria for antibiotic resistance genes // Antonie Van Leeuwenhoek. 2022. Jan 6. Epub ahead of print.
<https://doi.org/10.1007/s10482-021-01703-7>

Human Intestinal Microbiome – A Reservoir of Aminoglycoside-N-Acetyl Transferases – Drug Resistance Genes

M. G. Alekseeva^a, *, N. V. Zakharevich^a, A. V. Ratkin^a, and V. N. Danilenko^a

^a Vavilov Institute of General Genetics, Russian Academy of Sciences, Moscow, 119991 Russia

*e-mail: Alekseevamg@mail.ru

The human gut microbiome is a complex ecosystem that plays a key role in maintaining overall homeostasis and is a dynamic reservoir of antibiotic resistance genes that can be transferred between bacteria in mixed populations. One of the main enzymes that carry out the acetylation of a wide range of substrates are aminoglycoside-N-acetyltransferase (AAC). Previously, the bifunctional enzyme AAC(6')-Ie/APH(2'')-Ia was identified and characterized in *Enterococcus* and *Staphylococcus*, which is a clinically important enzyme. Within the framework of this study, genes encoding AAC(3) were identified in the sequenced genomes of strains belonging to *Bacteroides* and *Lactobacillus*. In the genomes of strains belonging to most species of *Bacteroides*, *Enterococcus*, and *Lactobacillus*, genes encoding Eis have been identified. The sequences of all identified AAC(3) and Eis do not resemble the sequences of known enzymes. AAC(3) and Eis in these bacteria may have different functions in the human body, including participation in the acetylation of peptides, proteins, and other substrates.

Keywords: human gut microbiome, *Bacteroides*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, aminoglycoside-N-acetyltransferase (AAC), Enhanced intracellular survival (Eis) protein.