

ОПЕРОН *mce* АКТИНОБАКТЕРИЙ – СТРУКТУРА И ФУНКЦИИ

© 2020 г. М. В. Зайчикова¹, *, В. Н. Даниленко¹

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

*e-mail: marinaz15@yandex.ru

Поступила в редакцию 17.01.2020 г.

После доработки 17.01.2020 г.

Принята к публикации 17.01.2020 г.

Обобщены результаты исследований оперонов *mce* возбудителя туберкулеза *Mycobacterium tuberculosis* и актинобактерий. Mce-транспортеры принадлежат к числу белков клеточной стенки. Геном *M. tuberculosis* включает четыре оперона *mce*, кодирующие комплексы, каждый из которых включает два интегральных трансмембранных белка (YrbEB), за которыми следуют шесть других Mce-белков (MceA–F). Функционально данные белки аналогичны ABC-транспортерам. Несмотря на значительную роль, которую они играют в патогенезе туберкулеза, белки Mce недостаточно изучены в связи со сложной организацией и регуляцией оперонов, однако целый ряд их функций установлен и включает проникновение клеток *M. tuberculosis* в клетки хозяина и выживание в них, транспорт холестерина и миколовых кислот, являющихся немаловажными факторами патогенности. Экспрессия оперонов *mce* зависит от многих факторов, включая стадию роста, среду культивирования и локализацию туберкулезного процесса. В настоящее время штаммы *M. tuberculosis* и *Mycobacterium bovis* с делетированными оперонами *mce* рассматриваются в качестве кандидатов для создания новых аттенуированных вакцин, которые, возможно, смогут стать альтернативой вакцине на основе *M. bovis* BCG, эффективность которой недостаточна для прекращения эпидемии туберкулеза.

Ключевые слова: вирулентность, *Mycobacterium tuberculosis*, *mce*-оперон, актинобактерии, ABC-транспортеры

DOI: 10.31857/S004213242002009X

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время туберкулез принадлежит к числу наиболее распространенных инфекционных заболеваний и входит в число десяти ведущих причин смерти в мире (ВНО, 2019). Особую опасность представляет увеличение доли штаммов как с множественной и широкой лекарственной устойчивостью, так и с повышенной вирулентностью (Ribeiro et al., 2014; Lange et al., 2018). Под вирулентностью понимают способность возбудителя инфицировать организм-хозяин. Она определяется рядом факторов, зависящих как от хозяина, включая его иммунный ответ, так и от самого патогена (Magimani et al., 2018). Клинические проявления и эпидемиология туберкулеза, таким образом, определяются балансом между иммунной системой хозяина и системами вирулентности патогена. Геном *Mycobacterium tuberculosis* включает более 300 генов, кодирующих различные факторы вирулентности, задействованные на разных этапах колонизации организма-хозяина, включая адгезию, внедрение в клетки, избегание ответа иммунной системы и т.д. (Forrellad et al., 2013; Prozorov et al., 2014). В их число входят гены, детерминирующие биосинтез миколовых кислот,

трансляционные регуляторы WhiB, серин-треониновые протеинкиназы, гены, кодирующие системы секреции VII типа, гены систем токсин–антитоксин и т.д. Их продукты необходимы на различных стадиях инфекционного процесса и позволяют осуществлять колонизацию слизистой хозяина, внедряться в клетки, избегать ответа иммунной системы, переживать неблагоприятные условия и т.д. В число подобных факторов патогенности входят белки Mce (Mammalian cell entry). Впервые участок ДНК *M. tuberculosis* H37Ra протяженностью 450 п.н., придающий клеткам кишечной палочки способность проникать в клетки млекопитающих и выживать в них, был идентифицирован в 1993 г. (Arguda et al., 1993). Именно с этой функцией, одной из первых известных, связано название данных белков. Они принадлежат к числу белков клеточной стенки и задействованы в проникновении клеток *M. tuberculosis* в макрофаги и выживании в них, в транспорте холестерина и миколовых кислот. В настоящее время для белков Mce показано наличие антигенной активности, что представляет интерес для использования их в качестве потенциальной

основы для генно-инженерной вакцины (Ahmad et al., 2004).

РАСПРОСТРАНЕНИЕ *mce*-ОПЕРОНОВ У БАКТЕРИЙ

Данные белки не являются специфичными только для *M. tuberculosis* и микобактерий туберкулезного комплекса. Они обнаружены у различных патогенных и непатогенных микобактерий, таких как *M. intracellulare*, *M. smegmatis* и *M. scrofulaceum* (Parker et al., 1995). Кроме микобактерий, *mce*-опероны отмечены в геномах множества как свободноживущих, так и патогенных микроорганизмов, включая семейства Intrasporangiaceae, Streptomycetaceae, Nocardioideae (Casali, Riley, 2007; Mohn et al., 2008; Nakayama, Zhang-Akiyama, 2016; Nemati et al., 2019).

Модули *mce* являются результатом тандемной дубликации, в связи с этим ряд микобактерий имеет несколько копий *mce* (Cole et al., 1998). Так, у *N. farcinica* присутствуют две копии — *mce7* и *mce8*. В целом же наблюдается тенденция к увеличению числа *mce*-оперонов у быстрорастущих микобактерий по сравнению с медленно растущими (Miller et al., 2004). *M. smegmatis* содержит 6 *mce*-оперонов — *mce1–7*. При этом оперон *mce3* у данного микроорганизма отсутствует, оперон *mce1* сходен с таковым у *M. tuberculosis*, но включает два дополнительных гена (*MSMEG_5902* и *MSMEG_5893*), в то время как в опероне *mce5* между генами *mce5A* и *mce5B* присутствует вставка (García-Fernández et al., 2017). Характерной особенностью оперона *mce3* является его редукция у целого ряда микобактерий, таких как *M. bovis* BCG, *M. smegmatis*, *M. microti* и *M. leprae* (Ahmad et al., 2004). Для последней характерно наличие всего одного модуля *mce* в геноме. Присутствие *mce*-оперонов у непатогенных бактерий может указывать на существование у них функций, отличных от вирулентности. В частности, участие *mce*-оперонов в катаболизме холестерина может объяснить наличие их у свободноживущих сапрофитных бактерий, поскольку в природе встречаются стероидные вещества, которые бактерии могут использовать в качестве субстратов для роста. В то же время, для *mce*-оперонов и их аналогов, обнаруженных в геномах некоторых патогенных бактерий, установлено участие в вирулентности. У *Leptospira interrogans* Mce-белок участвует в адгезии, обеспечивая взаимодействие с рецепторами клеток хозяина (Cosate et al., 2016). Ген *gltT*, являющийся аналогом *mce*-оперона у *Neisseria meningitidis*, при экспрессии придает штаммам высокую инвазивность и гипервирулентность (Pagliarulo et al., 2004).

ОСНОВНЫЕ СТРУКТУРНО- ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ БЕЛКОВ Mce У *Mycobacterium tuberculosis*

Белки Mce актинобактерий, включая *M. tuberculosis*, представляют собой АТФ-связывающие кассетные транспортеры. Белки YrbE функционально гомологичны пермеазам и имеют область в предпоследней цитоплазматической петле, которая может служить местом взаимодействия с АТФазами, в то время как другие Mce гомологичны субстрат-связывающим белкам (Casali, Riley, 2007). Между собой опероны *mce* обладают определенной гомологией, и, по-видимому, являются результатом тандемной дубликации (Cole et al., 1998). Для всех белков Mce характерен консервативный домен TIGR00996 (IPR005693), включающий 304 аминокислоты, который типичен для актиномицетов.

Некоторые из оперонов *mce* у актиномицетов включают ген *mkl*, кодирующий АТФазу, сходную с АТФазами ABC-транспортеров. У YrbE идентифицирована область в цитоплазматической петле, которая может служить участком взаимодействия с Mkl-АТФазой. Mkl обнаружена только у тех актиномицетов, геном которых содержит гены, кодирующие YrbE и белки Mce.

В состав оперонов часто включают и другие гены, функционально связанные с *mce* или задействованные в их регуляции. Так, в состав *mce1* в настоящее время включают *fadD5* (Rv0166), предполагаемой функцией которого является участие в первой стадии деградации жирных кислот (Dunphy et al., 2010). Кроме того, перед оперонами *mce1–3* расположены гены *mceR*, кодирующие транскрипционные регуляторы.

Оперон *mce1*

Оперон *mce1* присутствует у всех видов микобактерий. В состав оперона входит шесть генов (*mce1A–mce1F*), кодирующих белки-транспортеры, локализованные в клеточной стенке (Chitale et al., 2001; Shimono et al., 2003; Stavrum et al., 2012). Данный оперон является наиболее консервативным из всех оперонов *mce* и единственным, который обнаружен у *M. leprae*, для которого характерен сильно редуцированный геном (Forrellad et al., 2014). Оперон *mce1* исследуется в течение достаточно продолжительного времени, но результаты этих исследований зачастую противоречивы. Так, штаммы *M. tuberculosis*, нокаутные по *mce1*, демонстрируют гипервирулентный фенотип при введении их внутривенно или интратрахеально, в то время как при интратрахеальном введении их вирулентность, напротив, снижена (Shimono et al., 2003; Gioffré et al., 2005).

Наиболее подробно были исследованы функции белка Mce1A. Данный белок способствует проник-

новению в макрофаги клеток *E. coli* и частиц коллоидного золота (Chitale et al., 2001). Функциональный домен Inv3, играющий ключевую роль в этом, представляет собой последовательность, включающую 22 аминокислоты (Lu et al., 2006).

Функции его заключаются, как предполагается, в транспорте пальметиновой кислоты и миколовых кислот, являющихся важными факторами вирулентности, участвующими в защите патогена от иммунной системы хозяина путем ингибирования воспалительного ответа в макрофагах. Делеция данного оперона приводит к их накоплению во внеклеточном пространстве. Липидный профиль клетки также претерпевает серьезные изменения, включающие в себя снижение уровня сахароллипидов и глицерофосфолипидов и повышение уровня альфа-, метокси- и кетомиколовых кислот. Это обусловлено тем, что делеция оперона *mce1* приводит к снижению экспрессии участвующих в транспорте и метаболизме липидов генов *mmpL8*, *mmpL10*, *stf0*, *pks2* и *papA2*, продукты которых задействованы в противовоспалительном ответе. В то же время транскрипция *mmpL3*, *fasI*, *kasA*, *kasB*, *acpM* и *RV3451*, участвующих в транспорте и метаболизме миколовых кислот, увеличилась. Таким образом, делеция оперона *mce1*, приводя к изменению в метаболизме и составе липидов клеточной стенки, влияет на характер иммунной реакции хозяина и определяет особенности протекания инфекции (Queiroz et al., 2015). Кроме того, данный оперон экспрессируется на начальной стадии инфекции, а его продукты задействованы в переходе от фазы быстрого роста к фазе — медленного (Beste et al., 2009).

Оперон *mce2*

Оперон *mce2* присутствует у всех микобактерий туберкулезного комплекса, имеет типичное для оперонов *mce* строение и демонстрирует значительное гомологичное сходство с опероном *mce1* (Ahmad et al., 2005). Особенностью *mce2* является наличие фрагмента гена *Rv0590A* между *mce2B* и *mce2C* (Zhang, Xie, 2011). Белки Mce2, как предполагается, задействованы в метаболизме и импорте сульфоллипидов (Marjanovic et al., 2011). Делеция оперона *mce2* у штамма *M. tuberculosis* H37Rv не влияет на рост *in vitro*, но вызывает ослабление штамма при инфицировании лабораторных животных (Marjanovic et al., 2011). Делеция данного оперона, а также гена *phoP* у *Mycobacterium bovis* приводит к потере вирулентности и образованию аттенуированного штамма (García et al., 2016). Функции отдельных белков оперона изучены к настоящему времени недостаточно, за исключением Mce2E, который подавляет врожденный иммунный ответ макрофагов и способствует пролиферации эпителиальных клеток. Mce2E ингибирует активность сигнальных путей,

регулируемых внеклеточной сигнальной киназой (ERK) и Jun N-терминальной киназой (JNK), в свою очередь инициируемых митоген-активируемой протеинкиназой (МАРК), что приводит к снижению экспрессии TNF и IL-6 в макрофагах (Uchiya et al., 2013). Кроме того, Mce2E стимулирует пролиферацию эпителиальных легочных клеток. Таким образом, Mce2E является новым многофункциональным фактором вирулентности, регулирующим иммунный ответ хозяина (Qiang et al., 2019).

Оперон *mce3*

Как ранее было сказано, оперон *mce3* отсутствует у целого ряда микобактерий, таких как *M. bovis* BCG, *M. smegmatis*, *M. microti* и *M. leprae* (Ahmad et al., 2004; Zhang, Xie, 2011).

Как было установлено с использованием модельной линии клеток HeLa и латексных шариков, белки Mce3A и Mce3E, входящие в состав оперона, участвуют в процессах инвазии (El-Shazly et al., 2007).

Для белков Mce3A, Mce3D и Mce3E показана иммуногенная реакция (Ahmad et al., 2004; Zhang, Xie, 2011). Экспрессия оперона *mce3* находится под негативной регуляцией *mce3R*, который входит в семейство tetR и, в свою очередь, регулируется собственным продуктом Mce3R (Santangelo et al., 2008). Гены оперона *mce3* участвуют в путях биосинтеза фосфатидилинозитола и деградации липидов соответственно (Santangelo et al., 2008).

Для Mce3C показано участие в адгезии и проникновении в макрофаги, при этом задействован Arg-Gly-Asp-мотив (RGD). Mce3C взаимодействует с β 2-интегринами хозяина, обеспечивая проникновение в клетку. Связывание интегрин с Mce3C стимулирует β 2-интегрин-зависимые сигнальные адаптеры и индуцирует локальную перегруппировку актина в месте инвазии микобактерий (Zhang et al., 2018).

Установлено, что *mce3*-оперон экспрессируется в клетках возбудителя исключительно при инфицировании легочной ткани, при проникновении возбудителя в клетки селезенки экспрессия не обнаружена. Таким образом, экспрессия *mce3*-оперона является тканеспецифичной (Kumar et al., 2003).

У генов *mce3*-оперона *M. tuberculosis* были детектированы мутации. Для изолятов высоковирулентной линии F15/LAM4/KZN, отличительной особенностью которой является высокий уровень лекарственной устойчивости, в гене *mce3B* характерна мутация тимина на цитозин в 44-м положении. Еще одна мутация, представляющая замену аденина на цитозин в положении 1229 в *mce3F*, характерна для части изолятов сублинии B0/W-148, которая также отличается высоким уровнем лекарственной устойчивости и повышенной виру-

лентностью. Сублинии присвоено название B0/N-90 (Mikhecheva et al., 2017).

Оперон *mce4*

Оперон *mce4* экспрессируется в стационарной фазе культуры роста микобактерий *in vitro* либо в клетках лабораторных животных. Степень гомологии данного оперона достаточно высока среди различных микобактерий (Mitra et al., 2005; Saini et al., 2008; Timms et al., 2015).

Как и в случае с Mce1A, белок Mce4A придает клеткам *E. coli* способность проникать в клетки HeLa (Zhang, Xie, 2011). Делеция оперона *mce4* приводит к значительному снижению вирулентности *Mycobacterium tuberculosis* (Zhang, Xie, 2011; Khan et al., 2016).

Для Mce4F участие в вирулентности (а именно, в инвазии) было предсказано посредством анализа *in silico* (Rodríguez et al., 2015). Однако основной функцией данных белков является участие в катаболизме холестерина, входящего в состав мембран клеток-хозяев, который микобактерии используют в качестве источника при собственном развитии.

Белок Mce4E ингибирует активность макрофагов, нарушая фагоцитоз, и, таким образом, играет важную роль во взаимодействии хозяина с патогеном, поскольку альвеолярные макрофаги имеют антигенпрезентирующую функцию и участвуют в продукции цитокинов и TNF- α (Xu et al., 2008).

Таким образом, белки Mce задействованы в развитии инфекционного процесса, ингибируя активность альвеолярных макрофагов и взаимодействуя с иммунными системами хозяина, а также участвуя в формировании гранулемы (Marjanović et al., 2010). Являясь функционально и структурно сходными с ABC-транспортерами, они участвуют в транспорте липидов, являющихся факторами вирулентности (Nemati et al., 2019). Mce-белки *Mycobacterium tuberculosis* предположительно прокалывают внешний липидный слой и могут образовывать канал через него.

У *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* Mce-белки являются ключевым фактором взаимодействия с иммунной системой хозяина (Ghosh et al., 2012).

ОСОБЕННОСТИ ЭКСПРЕССИИ *mce*-ОПЕРОНОВ НА РАЗЛИЧНЫХ СТАДИЯХ РОСТА

При изучении экспрессии данных оперонов первоначально было установлено, что на экспоненциальной стадии роста культуры наблюдается экспрессия *mce1*, которая практически исчезает на стационарной фазе, когда начинается экспрессия *mce4*. Опероны *mce2* и *mce3* на стационарной фазе экспрессировались исключительно в тканях инфицированных животных (Kumar et al., 2003). Впоследствии, в 2016 г. было установлено

(Singh et al., 2016), что экспрессия *mce1* продолжается и на стационарной фазе. Очевидно, причиной получения результатов, отличающихся от результатов 2003 г. (Kumar et al., 2003), стали методологические различия (Kumar et al., 2003; Singh et al., 2016). Экспрессия оперонов *mce* происходит в основном на стационарной фазе роста, в условиях истощения питательных веществ и накопления продуктов обмена. Это может быть интерпретировано как участие *mce* в выживании в неблагоприятных условиях, в том числе в макрофагах. На это указывает также тот факт, что при стационарной фазе роста наблюдается экспрессия генов *Rv3843c*, *ponA1*, *uvrA*, *Rv3070*, *pks2*, *ctpV*, *prpA* и *sigE*, что является характерным для развития *M. tuberculosis in vivo* в тканях инфицированных лабораторных животных (Singh et al., 2016).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Опероны *mce* у *M. tuberculosis*, несомненно, играют чрезвычайно важную роль в патогенезе заболевания и в вирулентности. Их функции весьма разнообразны и заключаются как в транспорте других факторов вирулентности, включая миколовые кислоты и липиды, так и в непосредственном взаимодействии с клетками хозяина и его иммунными системами. Несмотря на то, что данная группа генов исследуется на протяжении двух десятилетий, их функции и роль в патогенезе туберкулеза ясны не до конца. Экспрессия *mce*-оперонов зависит от стадии роста, от использованных модельных систем (*in vitro* или *in vivo*), от локализации инфекционного процесса у лабораторных животных. Также для генов *mce* характерно наличие однонуклеотидных полиморфизмов, постепенно возникавших и накапливавшихся в ходе эволюции. Значительная часть полиморфизмов, приводящих к замене аминокислоты, может оказывать влияние на структуру белка-продукта, изменяя его свойства, в том числе антигенную активность (Ahmad et al., 2004; Mikhecheva et al., 2017). Анализ *in silico* мутаций в генах *mce1* и *mce4* — оперонов *M. tuberculosis* позволил предсказать для части из них значительное влияние на структуру и антигенные свойства (Pasricha et al., 2011). Данные гены не имеют аналогов в человеческом геноме, что делает их идеальными кандидатами для разработки вакцин. Кроме того, *mce*-оперон отсутствует у *M. bovis*, вследствие чего предыдущее прививание вакциной BCG не окажет влияния на иммунный ответ.

В связи с этим данная группа генов представляет несомненный интерес для изучения, в том числе с целью создания новых генно-инженерных вакцин.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена при поддержке гранта Российской государственной академии наук № 17-75-20060 “Поиск биоми-

шеней потенциальных противотуберкулезных препаратов класса азоло[1,2,4,5]тетразинов” (2017–2019).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием людей и животных в качестве объектов изучения.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Ahmad S., El-Shazly S., Mustafa A.S. et al.* Mammalian cell-entry proteins encoded by the *mce3* operon of *Mycobacterium tuberculosis* are expressed during natural infection in humans // *Scand. J. Immunol.* 2004. V. 60. № 4. P. 382–391.
- Ahmad S., El-Shazly S., Mustafa A.S. et al.* The six mammalian cell entry proteins (Mce3A–F) encoded by the *mce3* operon are expressed during *in vitro* growth of *Mycobacterium tuberculosis* // *Scand. J. Immunol.* 2005. V. 62. № 1. P. 16–24.
- Arruda S., Bomfim G., Knights R. et al.* Cloning of an *M. tuberculosis* DNA fragment associated with entry and survival inside cells // *Science.* 1993. V. 261. № 5127. P. 1454–1457.
- Beste D.J.V., Espasa M., Bonde B. et al.* The genetic requirements for fast and slow growth in mycobacteria // *PLoS One.* 2009. V. 4. P. e5349.
- Casali N., Riley L.W.* A phylogenomic analysis of the actinomycetales *mce* operons // *BMC Genomics.* 2007. V. 26. № 8. P. 60.
- Chitale S., Ehrt S., Kawamura I. et al.* Recombinant *Mycobacterium tuberculosis* protein associated with mammalian cell entry // *Cell. Microbiol.* 2001. V. 3. № 4. P. 247–254.
- Cole S.T., Brosch R., Parkhill J. et al.* Deciphering the biology of *Mycobacterium tuberculosis* from the complete genome sequence // *Nature.* 1998. V. 393. № 6685. P. 537–544.
- Cosate M.R., Siqueira G.H., de Souza G.O. et al.* Mammalian cell entry (Mce) protein of *Leptospira interrogans* binds extracellular matrix components, plasminogen and $\beta 2$ integrin // *Microbiol. Immunol.* 2016. V. 60. № 9. P. 586–598.
- Dunphy K.Y., Senaratne R.H., Masuzawa M. et al.* Attenuation of *Mycobacterium tuberculosis* functionally disrupted in a fatty acyl-coenzyme A synthetase gene *fadD5* // *J. Infect. Dis.* 2010. V. 201. P. 1232–1239.
- El-Shazly S., Ahmad S., Mustafa A.S. et al.* Internalization by HeLa cells of latex beads coated with mammalian cell entry (Mce) proteins encoded by the *mce3* operon of *Mycobacterium tuberculosis* // *J. Med. Microbiol.* 2007. V. 56. Pt 9. P. 1145–1151.
- Forrellad M.A., Klepp L.I., Gioffre A. et al.* Virulence factors of the *Mycobacterium tuberculosis* complex // *Virulence.* 2013. V. 4. № 1. P. 3–66.
- Forrellad M.A., McNeil M., Santangelo M.-L. et al.* Role of the Mce1 transporter in the lipid homeostasis of *Mycobacterium tuberculosis* // *Tuberculosis (Edinb).* 2014. V. 94. № 2. P. 170–177.
- García E., Bianco M.V., Blanco F.C. et al.* *Mycobacterium bovis* deleted in *mce2* and *phoP* loci protects C57BL/6 mice against tuberculosis // *J. Infect. Dev. Ctries.* 2016. V. 10. № 8. P. 892–894.
- García-Fernández J., Papavinasasundaram K., Galán B. et al.* Molecular and functional analysis of the *mce4* operon in *Mycobacterium smegmatis* // *Environ. Microbiol.* 2017. V. 19. № 9. P. 3689–3699.
- Ghosh P., Hsu C., Alyamani E.J. et al.* Genome-wide analysis of the emerging infection with *Mycobacterium avium* subspecies paratuberculosis in the Arabian camels (*Camelus dromedarius*) // *PLoS One.* 2012. V. 7. № 2. P. e31947.
- Gioffre A., Infante E., Aguilar D. et al.* Mutation in *mce* operons attenuates *Mycobacterium tuberculosis* virulence // *Microb. Infect. Inst. Pasteur.* 2005. V. 7. P. 325–334.
- Hemati Z., Derakhshandeh A., Haghkhal M. et al.* Mammalian cell entry operons; novel and major subset candidates for diagnostics with special reference to *Mycobacterium avium* subspecies paratuberculosis infection // *Vet. Quart.* 2019. V. 39. № 1. P. 65–75.
- Khan S., Islam A., Hassan M.I. et al.* Purification and structural characterization of Mce4A from *Mycobacterium tuberculosis* // *Int. J. Biol. Macromol.* 2016. V. 93. Pt A. P. 235–241.
- Kumar A., Bose M., Brahmachari V.* Analysis of expression profile of mammalian cell entry (*mce*) operons of *Mycobacterium tuberculosis* // *Infect. Immun.* 2003. V. 71. № 10. P. 6083–6087.
- Lange C., Chesov D., Heyckendorf J. et al.* Drug-resistant tuberculosis: an update on disease burden, diagnosis and treatment // *Respirology.* 2018. V. 23. № 7. P. 656–673.
- Lu S., Tager L.A., Chitale S., Riley L.W.* A cell-penetrating peptide derived from mammalian cell uptake protein of *Mycobacterium tuberculosis* // *Anal. Biochem.* 2006. V. 353. № 1. P. 7–14.
- Marimani M., Ahmad A., Duse A.* The role of epigenetics, bacterial and host factors in progression of *Mycobacterium tuberculosis* infection // *Tuberculosis (Edinb).* 2018. V. 113. P. 200–214.
- Marjanovic O., Iavarone A.T., Riley L.W.* Sulfolipid accumulation in *Mycobacterium tuberculosis* disrupted in the *mce2* operon // *J. Microbiol.* 2011. V. 49. № 3. P. 441–447.
- Marjanovic O., Miyata T., Goodridge A. et al.* *Mce2* operon mutant strain of *Mycobacterium tuberculosis* is attenuated in C57BL/6 mice // *Tuberculosis (Edinb).* 2010. V. 90. № 1. P. 50–56.
- Mikhecheva N.E., Zaychikova M.V., Melerzanov A.V. et al.* A nonsynonymous SNP catalog of *Mycobacterium tuberculosis* virulence genes and its use for detecting new potentially virulent sublineages // *Gen. Biol. Evol.* 2017. V. 9. № 4. P. 887–899.
- Miller C.D., Hall K., Liang Y.N. et al.* Isolation and characterization of polycyclic aromatic hydrocarbon-degrading *Mycobacterium* isolates from soil // *Microb. Ecol.* 2004. V. 48. № 2. P. 230–238.
- Mitra D., Saha B., Das D. et al.* Correlating sequential homology of Mce1A, Mce2A, Mce3A and Mce4A with their possible functions in mammalian cell entry of *Mycobacterium tuberculosis* performing homology modeling // *Tuberculosis (Edinb).* 2005. V. 85. № 5–6. P. 337–345.
- Mohn W.W., van der Geize R., Stewart G.R. et al.* The actinobacterial *mce4* locus encodes a steroid transporter // *J. Biol. Chem.* 2008. V. 283. № 51. P. 35368–35374.

- Nakayama T., Zhang-Akiyama Q.M. *pqiABC* and *yebST*, putative *mce* operons of *Escherichia coli*, encode transport pathways and contribute to membrane integrity // *J. Bacteriol.* 2016. V. 199. № 1. pii: e00606-16.
- Pagliarulo C., Salvatore P., De Vitis L.R. et al. Regulation and differential expression of *gdhA* encoding NADP-specific glutamate dehydrogenase in *Neisseria meningitidis* clinical isolates // *Mol. Microbiol.* 2004. V. 51. № 6. P. 1757–1772.
- Parker S.L., Tsai Y.L., Palmer C.J. Comparison of PCR-generated fragments of the *mce* gene from *Mycobacterium tuberculosis*, *M. avium*, *M. intracellulare*, and *M. scrofulaceum* // *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 1995. V. 2. № 6. P. 770–775.
- Pasricha R., Chandolia A., Ponnann P. et al. Single nucleotide polymorphism in the genes of *mce1* and *mce4* operons of *Mycobacterium tuberculosis*: analysis of clinical isolates and standard reference strains // *BMC Microbiol.* 2011. V. 11. P. 41.
- Prozorov A.A., Fedorova I.A., Bekker O.B. et al. The virulence factors of *Mycobacterium tuberculosis*: genetic control, new conceptions // *Genetika.* 2014. V. 50. № 8. P. 885–908.
- Qiang L., Wang J., Zhang Y. et al. *Mycobacterium tuberculosis* Mce2E suppresses the macrophage innate immune response and promotes epithelial cell proliferation // *Cell Mol. Immunol.* 2019. V. 16. № 4. P. 380–391.
- Queiroz A., Medina-Cleghorn D., Marjanovic O. et al. Comparative metabolic profiling of *mce1* operon mutant vs wild-type *Mycobacterium tuberculosis* strains // *Pathog. Dis.* 2015. V. 73. № 8. P. ftv066.
- Ribeiro S.C., Gomes L.L., Amaral E.P. et al. *Mycobacterium tuberculosis* strains of the modern sublineage of the Beijing family are more likely to display increased virulence than strains of the ancient sublineage // *J. Clin. Microbiol.* 2014. V. 52. P. 2615–2624.
- Rodríguez D.C., Ocampo M., Varela Y. et al. Mce4F *Mycobacterium tuberculosis* protein peptides can inhibit invasion of human cell lines // *Pathog. Dis.* 2015. V. 73. № 3. P. ftu020.
- Saini N.K., Sharma M., Chandolia A. et al. Characterization of Mce4A protein of *Mycobacterium tuberculosis*: role in invasion and survival // *BMC Microbiol.* 2008. V. 8. № 1. P. 200.
- Santangelo M.P., Blanco F.C., Bianco M.V. et al. Study of the role of Mce3R on the transcription of *mce* genes of *Mycobacterium tuberculosis* // *BMC Microbiol.* 2008. V. 8. № 1. P. 38.
- Shimono N., Morici L., Casali N. et al. Hypervirulent mutant of *Mycobacterium tuberculosis* resulting from disruption of the *mce1* operon // *PNAS USA.* 2003. V. 100. P. 15918–15924.
- Singh P., Katoch V.M., Mohanty K.K. et al. Analysis of expression profile of *mce* operon genes (*mce1*, *mce2*, *mce3* operon) in different *Mycobacterium tuberculosis* isolates at different growth phases // *Ind. J. Med. Res.* 2016. V. 143. № 4. P. 487–494.
- Stavrum R., Valvatne H., Stavrum A.-K. et al. *Mycobacterium tuberculosis* Mce1 protein complex initiates rapid induction of transcription of genes involved in substrate trafficking // *Genes Immun.* 2012. V. 13. № 6. P. 496–502.
- Timms V.J., Hassan K.A., Mitchell H.M. et al. Comparative genomics between human and animal associated subspecies of the *Mycobacterium avium* complex: a basis for pathogenicity // *BMC Genomics.* 2015. V. 16. P. 695.
- Uchiya K., Takahashi H., Yagi T. et al. Comparative genome analysis of *Mycobacterium avium* revealed genetic diversity in strains that cause pulmonary and disseminated disease // *PLoS One.* 2013. V. 8. № 8. P. e71831.
- WHO. Global tuberculosis report 2017. Geneva: World Health Organization, 2019.
- Xu G., Li Y., Yang J. et al. *Mycobacterium bovis* Mce4E protein may play a role in modulating cytokine expression profile in alveolar macrophage // *Int. J. Tuberc. Lung Dis.* 2008. V. 12. P. 664–669.
- Zhang F., Xie J.P. Mammalian cell entry gene family of *Mycobacterium tuberculosis* // *Mol. Cell Biochem.* 2011. V. 352. № 1–2. P. 1–10.
- Zhang Y., Li J., Li B. et al. *Mycobacterium tuberculosis* Mce3C promotes mycobacteria entry into macrophages through activation of $\beta 2$ integrin-mediated signalling pathway // *Cell Microbiol.* 2018. V. 20. № 2. <https://doi.org/10.1111/cmi.12800>

Actinobacteria *mce* Operon – Structure and Functions

M. V. Zaychikova¹, * and V. N. Danilenko¹

¹Vavilov Institute of General Genetics, Moscow, Russia

*e-mail: marinazz15@yandex.ru

Here we summarize the studies of *mce* operons of the causative agent *Mycobacterium tuberculosis* and actinobacteria. Mce transporters belong to a group of cell wall proteins. The genome of *M. tuberculosis* contains four *mce* operons encoding complexes each of which consists of two integral membrane proteins (YrbEB) followed by six other Mce proteins (MceA–F). These proteins are functionally similar to ABC transporters. Despite their significant role in the pathogenesis of *M. tuberculosis* infection, Mce proteins, due to their complex structure and operon regulation, remain poorly studied. Nevertheless, a range of functions of these proteins have been characterized, which include the entry of *M. tuberculosis* into the host cells and its survival as well as the transport of cholesterol and mycolic acids, which are pathogenicity factors of no small importance. The expression of *mce* operons depends on many factors, such as the growth phase, the culture medium and the localization of *M. tuberculosis* infection. Today, strains of *M. tuberculosis* and *M. bovis* with deleted *mce* operons are considered as candidates for the development of new attenuated vaccines, which might one day replace the *M. bovis* BCG vaccine deemed no longer sufficiently strong to hold back the tuberculosis epidemic.

Keywords: virulence, *Mycobacterium tuberculosis*, *mce* operon, actinobacteria, ABC transporters