

## НЕСТАБИЛЬНОСТЬ ГЕНОМА И ЕЁ РОЛЬ В ЭВОЛЮЦИИ, АДАПТАЦИИ И ПЕРСИСТЕНЦИИ ПАТОГЕННЫХ БАКТЕРИЙ К 120-ЛЕТИЮ СО ДНЯ РОЖДЕНИЯ ЛАУРЕАТА НОБЕЛЕВСКОЙ ПРЕМИИ ПО ФИЗИОЛОГИИ И МЕДИЦИНЕ 1983 г. БАРБАРЫ МАККЛИНТОК

© 2022 г. Б. Г. Андрюков<sup>a,b,\*</sup>, Т. А. Кузнецова<sup>a,\*\*</sup>, Н. Н. Беседнова<sup>a,\*\*\*</sup>

<sup>a</sup>НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.П. Сомова Роспотребнадзора, Владивосток, Россия

<sup>b</sup>Дальневосточный федеральный университет, Школа медицины, Владивосток, Россия

\*E-mail: andrukov\_bg@mail.ru

\*\*E-mail: takuznets@mail.ru

\*\*\*E-mail: besednoff\_lev@mail.ru

Поступила в редакцию 11.06.2022 г.

После доработки 26.06.2022 г.

Принята к публикации 29.06.2022 г.

Патогенные бактерии демонстрируют удивительное разнообразие стратегий колонизации и преодоления иммунной защиты организма-хозяина. В ходе эволюции многие инфекционные агенты расширили свой геном за счёт прокариот различных таксонов путём горизонтального (латерально-го) переноса мобильных генетических элементов (МГЭ). Открытию феномена генетической транспозиции МГЭ человечество обязано гениальному цитогенетику XX в. Барбаре МакКлинток, посвятившей всю свою жизнь изучению нестабильности генома. Эта революционная парадигма лежит в основе современной геномной инженерии и концептуально связанных с ней молекулярной микробиологии, экологии и адаптационной эволюции, однако потребовалось более 30 лет, чтобы открытие Б. МакКлинток было признано и принято в научном мире. Работы этой уникальной женщины-учёного о генетической транспозиции перевернули представление о генетике, бросили вызов доминирующей парадигме о статичности генома, передаваемого из поколения в поколение, и доказали его нестабильность.

Отдавая должное гениальной научной прозорливости МакКлинток и в связи с 120-летием со дня её рождения, в этом обзоре авторы очерчивают основные вехи её жизни в науке, акцентируя внимание на открытии генетической транспозиции и нестабильности генома, обсуждают механизмы горизонтального переноса генов и участие различных МГЭ в формировании вирулентности, адаптивной эволюции и персистенции патогенных бактерий.

**Ключевые слова:** Барбара МакКлинток, Barbara McClintock, мобильные генетические элементы (МГЭ), горизонтальный перенос генов (ГПП), нестабильность генома, патогенные бактерии, эволюция, персистенция, адаптация.

**DOI:** 10.31857/S0869587322120027

*“Если вы знаете, что находитесь на правильном пути,  
если у вас есть это внутреннее знание,  
то никто не сможет вас сбить...  
что бы они ни говорили”.*  
Барбара МакКлинток, 1953 г.

История фундаментального открытия Барбары МакКлинток трагична и во многом необычайно поучительна. Оно не соответствовало домини-

ровавшей в то время парадигме о статичности генома, передаваемого из поколения в поколение, а, напротив, доказывало его нестабильность. В на-

АНДРЮКОВ Борис Георгиевич — доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории кишечных инфекций НИИЭМ им. Г.П. Сомова Роспотребнадзора. БЕСЕДНОВА Наталья Николаевна — академик РАН, главный научный сотрудник лаборатории иммунологии НИИЭМ им. Г.П. Сомова Роспотребнадзора. КУЗНЕЦОВА Татьяна Алексеевна — доктор медицинских наук, заведующая лабораторией иммунологии НИИЭМ им. Г.П. Сомова Роспотребнадзора.



Барбара МакКлинток (1902–1992)

ше время революционные научные идеи о нестабильности генома, высказанные МакКлинток в середине XX в., лежат в основе современной геной инженерии, однако на то, чтобы они были признаны в научном мире ушло более 30 лет. Самая значительная из этих идей – о существовании мобильных генетических элементов (МГЭ) – дискретных единиц ДНК, способных занимать различные положения в геноме [1, 2].

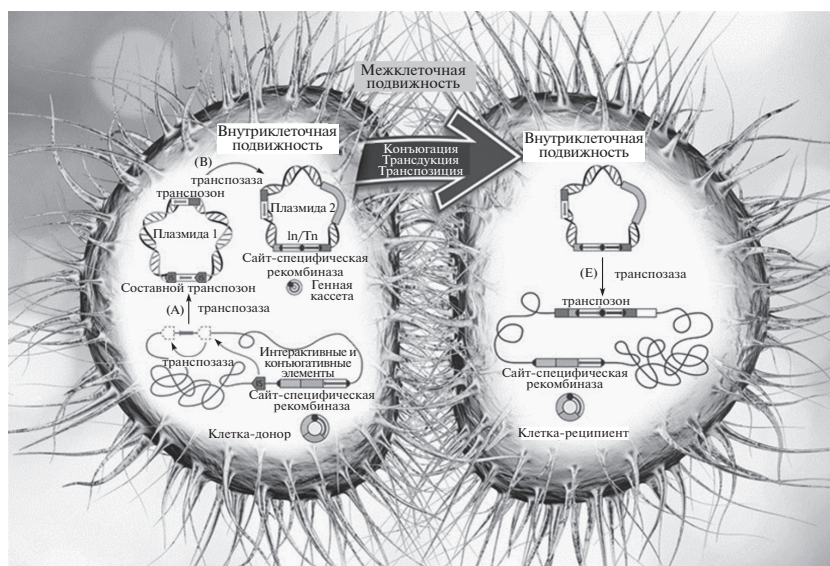
Б. МакКлинток повторила драматичную судьбу многих учёных, сделавших открытия, которые опередили своё время. В этом печальном ряду стоят Г. Мендель, Г. Галилей, Н. Коперник, И. Земельвейс, Л. Больцман, У. Харви, У.Б. Коли и другие великие новаторы и творцы истории науки, большинство из которых не дожили до триумфа своих гениальных идей. В отличие от них МакКлинток была нашей современницей и признанным авторитетом в области изучения мозаичности гибридной кукурузы. Однако это не помешало коллегам-генетикам и всему научному сообществу, не разглядевшим значения нового открытия, объявить её сумасшедшей и окружить стеной непонимания и враждебности [1, 3]. Оппозиция учёных-современников новаторской концепции МакКлинток была настолько яростной, что вы-

нудила её на долгие 30 лет прекратить выступления и публикации [2–4].

Получается, история науки не меняется: когда кто-то из учёных забегает далеко вперёд, он становится изгоем, и могут пройти десятилетия или даже столетия, прежде чем его открытие будет оценено, а репутация восстановлена. В значительной степени это касается и судьбы Б. МакКлинток, а также её замечательного открытия загадочных “прыгающих” генов и генетической транспозиции фрагментов ДНК. Гениальность этого открытия заключалась в том, что оно было сделано до описания экстрахромосомных детерминант наследственности и изменчивости прокариот, открытия плазмид и генетической конъюгации Дж. Ледбергом, структуры ДНК Дж. Уотсоном и Ф. Криком и задолго до обнаружения у прокариот особого вида мутаций, ассоциированных со вставками инсерционных последовательностей, появления полимеразой цепной реакции и полногеномного секвенирования генома [1, 3, 4].

Со временем оказалось, что последствия горизонтального переноса генов (ГПГ), обусловленного МГЭ, имеют фундаментальное значение для генетики бактерий: они определяют новые функции генов, влияя на их экспрессию в микробных популяциях. Микробный мобилом (см. ниже) рассматривается в качестве основного компонента метагенома бактерий и ключевого механизма адаптивной эволюции прокариотических сообществ [1, 4]. Последствия ГПГ концептуально связаны с медицинской микробиологией и объясняют многие механизмы адаптивной эволюции и персистенции бактерий, приобретения ими факторов патогенности, устойчивости к антибиотикам [2, 3, 5]. МГЭ чрезвычайно распространены в природе, определяя её биологическое многообразие. Выявлено, например, что 40–45% человеческого генома состоит из МГЭ, которые, возможно, играют значительную роль в возникновении наследственных заболеваний человека, могут составлять большую часть генома у эукариот и прокариот [1, 4, 5].

В процессе эволюционного отбора бактерии расширяли ареалы используемых природных ниш и хозяев, которые в свою очередь развили сложные механизмы иммунологической защиты. Факультативные паразиты в этих условиях приобрели психрофильность и набор ферментов, оптимум активности которых наступает при различных температурах, что позволило им стать экологически пластичными. Облигатные бактерии-паразиты в бесконечном эволюционном поиске способов выживания приобрели новые факторы патогенности за счёт перемещения МГЭ между неродственными микроорганизмами, относящимися к различным таксонам. Таким образом, генетическая транспозиция ДНК – богатый и неис-



**Рис. 1.** Обусловленные МГЭ механизмы горизонтального генетического обмена включают конъюгацию (реализуемую плазмидами), трансдукцию (макрофрагментами) и трансформацию (свободными фрагментами ДНК)

черпаемый эволюционный ресурс для бактерий, обеспечивающий им адаптационную пластичность, накопление и передачу патогенного потенциала [2, 4, 5].

Через несколько десятилетий после открытия Б. МакКлинток будет установлено, что механизмы горизонтального генетического обмена включают конъюгацию, трансдукцию и трансформацию, а общество мобильных элементов расширят за счёт плазмид, интегронов, интронов, островков патогенности, бактериофагов, инсерционных последовательностей и выделяют в отдельное семейство МГЭ – *прокариотический мобилом* [1, 3] (рис. 1). Становится всё более очевидным, что обусловленные мобильными генетическими элементами последствия ГПГ – главная движущая сила эволюции, и они имеют фундаментальное значение для адаптации бактерий [2, 3, 5]. Однако это осознание пришло намного позже – в конце 1960-х – начале 1970-х годов, когда было установлено, что транспозиция нуклеиновых кислот широко распространена в природе и имеет всеобщее значение, а МГЭ не только оказывают модулирующее влияние на бактериальный геном, но и играют ключевую роль в эволюции живого мира [2, 4].

Обратимся теперь к основным вехам научной деятельности Б. МакКлинток, уделяя основное внимание открытию генетической транспозиции и нестабильности генома.

**“Я просто знала, что была права”.** История открытия парадигмы генетической транспозиции и нестабильности генома родилась не на пустом месте. Предшествующие научно-исторические предпосылки, знания, накопленные в различных разделах генетики оказали влияние на круг науч-

ных увлечений молодой студентки Корнельского сельскохозяйственного колледжа: курс селекционера растений и генетика К.Б. Хатчинсона по уровню соответствовал Гарвардскому университету и пробудил её интерес к генетике. С другой стороны, сыграло свою роль и описание в начале XX в. Гуго де Фризом (создателем теории мутаций) выраженной нестабильности наследственности у высших организмов [4, 6].

Энтузиазму, упорству и настойчивости, а также чистоте и изяществу экспериментов при проведении научных исследований будущей нобелевский лауреат училась у замечательного исследователя-генетика и профессора Корнельского университета Р.А. Эмерсона, влияние которого на свою научную деятельность МакКлинток постоянно подчёркивала. Он не только привил студентке-ботанику интерес к генетическому анализу мозаицизма у кукурузы – основной биологической модели генетиков в те годы, но и своими исследованиями “фактора и временного ингибитора мозаицизма” инициировал создание концепции нестабильности генома [1, 2, 7]. Несомненное влияние на научное мировоззрение МакКлинток оказали также последующие работы в области генной нестабильности насекомых и микроорганизмов одного из выдающихся учеников Эмерсона – М. Демерца [6].

Изучая ботанику и проходя последовательно все учёные ступени (бакалавр, магистр и доктор философии в 1927 г.), МакКлинток мечтала о генетике и добилась своего, приняв в 1941 г. предложение М. Демерца занять должность исследователя в Вашингтонской лаборатории Колд-Спринг-Харбор Института Карнеги, где прорабо-



**Рис. 2.** Барбара МакКлинток в лаборатории Колд-Спринг-Харбор Института Карнеги в 1947, 1980 и 1983 г. (слева направо)

Фото публикуются с разрешения библиотеки лаборатории Колд-Спринг-Харбор, обработка и коллаж авторов

тала до выхода на пенсию. Молодой исследовательнице повезло: она попала в научное учреждение, по праву считавшееся Меккой биологических наук. В этой лаборатории в разные годы работали восемь будущих нобелевских лауреатов, получивших впоследствии эту престижную премию за генетические открытия. Неслучайно это учреждение признавалось в тот период одним из мировых лидеров в изучении генетики растений [6, 7]. Далее последовали годы упорного и плодотворного труда, и вскоре (1944) доктор МакКлинток стала третьей за всю историю женщиной, избранной в члены Национальной академии наук, а через год – первой женщиной-президентом Американского общества генетиков [1, 2, 7]. В её научной биографии 1940–1950-е годы были связаны не только с получением многих наград и почётных стипендий. Было положено начало обобщению полученных результатов многолетних цитогенетических исследований нестабильности кукурузного генома в виде стройной концепции. Изучая разрывы хромосом (dissociation, Ds), смещение точек разрыва и образование нестабильных мутаций, МакКлинток связала их формирование с контролирующим геном *Ds*. Она установила, что этот ген находится под контролем доминантного гена-активатора *Ac*, влияющего на свойства *Ds*, в том числе на его способность к транспозиции в составе хромосомы [6, 7] (рис. 2).

Б. МакКлинток впервые представила свою новаторскую гипотезу о нестабильности генома в 1950-х годах на авторитетных научных форумах (съезд Американской академии наук и международная конференция генетиков в Колд-Спринг-Харборе). Однако её выводы о существовании “блуждающих” генетических элементов, способ-

ных менять положение в геноме хозяина, были признаны “парадоксальными и неправдоподобными”. Действительно, эта революционная идея перечёркивала сформулированную в начале XX в. каноническую теорию Т. Моргана и поэтому была принята враждебно большинством генетиков мира, а их автор была вынуждена замолчать на 30 лет, продолжала заниматься исследованиями самостоятельно, оставленная без поддержки профессионального научного сообщества [2, 4, 6].

Поразительно, что все последующие работы, выполненные другими учёными в 1960–1970-е годы с использованием появившихся молекулярных инструментов, лишь подтвердили блестящие выводы, полученные МакКлинток с помощью цитогенетических исследований, проведённых с помощью обычного светового микроскопа [8–10]. Главные из них: мутации генов связаны с влиянием на геном регуляторных контролируемых мобильных элементов; помимо возникновения мутантных событий, эти мобильные элементы могут модулировать активность генов организма-хозяина; блуждающие гены могут составлять большую часть генома прокариот и эукариот [8, 10]. Впоследствии было установлено, что МГЭ способны интегрироваться, перемещаться и распространяться в регуляторных или кодирующих областях геномов практически всех таксонов живого мира – от бактерий и вирусов до одноклеточных и многоклеточных эукариот. Они кодируют синтез структурных белков и ферментов, обеспечивающих собственную пролиферацию и последующую генетическую инвазивную активность. В то же время эти мобильные элементы могут передавать клеткам организма-хозяина новые функции и свойства, позволяющие им адаптиро-

ваться к изменяющимся условиям среды обитания [11–13].

В последние десятилетия всё острее встаёт проблема приобретения патогенными бактериями резистентности к антибиотикам. Выявлены штаммы потенциально смертельных патогенов (*Enterococcus faecalis*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Staphylococcus aureus*), устойчивые ко всем известным классам антибиотиков [10, 12, 14]. Установлено, что ключевым механизмом формирования бактериальной резистентности является ГПГ, реализуемый мобильными элементами с участием плазмид, транспозонов, интегров, способных легко перемещаться из одной клетки в другую [1, 2, 13, 14]. Помимо резистентности к антимикробным средствам эти и другие мобильные элементы способны путём транслокации распространять в популяциях гены, кодирующие разнообразные факторы патогенности бактерий. В частности, белки и ферменты, кодирующиеся МГЭ, входят в протеом патогенных бактерий, обеспечивают их персистенцию, защиту от иммунитета хозяина, синтез и выделение токсинов, уникальные метаболические пути, и, в конечном счёте, эволюционное преимущество при освоении новых экосистем и распространении инфекционных заболеваний [4, 15, 16].

Одно из подтверждений идей доктора Б. МакКлинток было получено уже в 1961 г. Ф. Жакобом совместно с Ж. Моно и А. Львовым на модели *Escherichia coli*. Согласно выдвинутой этими исследователями гипотезе функции генов различны: помимо структурных, кодирующих информацию об аминокислотном составе ферментов, существуют гены-регуляторы, оказывающие влияние на их активность. Последние, располагаясь рядом, образуют оперон и программируют внутриклеточную транскрипцию и экспрессию ферментов. Кроме того, в структуру оперона входит ген-оператор, который контролирует ген-регулятор, в свою очередь кодирующий синтез белка-репрессора. Репрессор в активной форме подавляет транскрипцию ДНК и выключает оперон. Обратный процесс включения оперона происходит при переходе гена-оператора в неактивную форму [13, 14]. В последующем авторы этой гипотезы интерполировали свои выводы, полученные на прокариотической модели, на все живые организмы [2, 13, 15].

Не раз в истории науки непонятные и неочевидные идеи предопределяют другие открытия, сделанные намного позже. Последующие (1970–1980-е годы) открытия транспозонов и других мобильных элементов в составе генома прокариот и эукариот убедили мировое генетическое сообщество в правильности блестящих идей МакКлинток. Одним из достижений стало обнаружение в 1972 г. [цит. по 16] двух инсерционных последова-

тельностей (IS) у *E. coli*, которые вызывали несколько мутаций. Эти IS-вставки по их контролирующим функциям были названы авторами аналогами генетических элементов, обнаруженных доктором МакКлинток у кукурузы [16].

В 1983 г. МакКлинток стала первой (и пока единственной) женщиной, получившей единолично Нобелевскую премию по физиологии и медицине [2, 7]. Присуждение и вручение ей этой престижной награды спустя почти 40 лет после совершения открытия МГЭ, как и присвоение ей в дальнейшем почётных докторских степеней 14 различных национальных академий наук, стало не только блестящим признанием правоты и гениальности учёного, но и достойной оценкой её поразительной уверенности в правоте собственных идей. “В течение многих лет мне действительно нравилось, что не нужно защищать своё научное мнение. Я могла просто работать с величайшим удовольствием, никогда не чувствуя ни потребности, ни желания отстаивать свои взгляды... Я просто знала, что была права,” – писала она в 1984 г. [3, с. 297]. На протяжении всей своей долгой карьеры исследователя-цитогенетика МакКлинток оставалась примером необыкновенного упорства, твёрдости духа и убеждённости в собственной правоте. В историю науки она вошла прежде всего как первооткрыватель феномена генетической транспозиции и мобильных генетических элементов, а также инновационной концепции нестабильности генома.

**Значение нестабильности генома и МГЭ в адаптивной эволюции и персистенции патогенных бактерий.** Новаторская идея Б. МакКлинток о нестабильности генома, а также последующие теоретические и эмпирические концепции согласуются с представлениями о том, что стойкость и чрезвычайное многообразие “эгоистичных” МГЭ объясняются их инвазивной активностью и механизмами самовоспроизведения [2, 4, 14, 17]. Действительно, в ряде случаев инвазии мобильных элементов имеют нейтральные или негативные последствия для бактериальных клеток, например, из-за нарушения открытых рамок считывания или регуляции транскрипции генов [18]. Однако, несмотря на “паразитические” характеристики применительно к фенотипической дивергенции, персистенции и адаптации бактерий, генетическая транспозиция МГЭ также сочетается с полезным вкладом этих элементов в физиологию клетки-хозяина. Они всё чаще рассматриваются в качестве неисчерпаемого источника генетической изменчивости и адаптивной эволюции видов, образования новых свойств, обеспечивающих жизнеспособность бактерий в динамичных условиях среды обитания [3, 5, 12, 19].

Кроме того, межклеточная транслокация мобильных элементов связана с приобретением но-

вых генетических модулей посредством сложных взаимодействий между бактериальными геномами и МГЭ, обуславливая приобретение и потерю генов. Это играет ключевую роль в адаптации бактерий, обеспечивая генетическую пластичность, появление новых многочисленных клеточных функций, дающих эволюционные преимущества для адаптации к новым условиям отдельной взятой бактериальной клетки и популяции в целом [5, 15, 19]. Однако ключевая роль объясняемой МГЭ нестабильности генома в адаптивной эволюции и персистенции патогенных бактерий начала исследоваться и раскрываться только в последнее время в связи с открытием новых типов мобильных элементов [11, 15, 19].

При всей гетерогенности семейства МГЭ прокариотический мобилом определяется как любая вставочная последовательность нуклеиновых кислот и её транслокация внутри или между геномами. Согласно этому определению, спектр мобильных элементов весьма вариативен. Он включает в себя как простые фрагменты ДНК и инсерционные последовательности (insertion sequences, IS), так и большие острова патогенности, интроны, интегроны, бактериофаги, конъюгативные мегаплазмиды и транспозоны, которые представляют собой сложные геномы [20–24]. Для систематизации растущего числа МГЭ в прокариотических и эукариотических геномах используются различные подходы. Первая попытка их классификации была предпринята в 1989 г. [цит. по 13]. Все типы мобильных элементов были разделены на два класса в соответствии с промежуточным звеном транспозиции РНК (I класс – ретротранспозоны, основной механизм – “копировать и вставить”) и ДНК (II класс – ДНК-транспозоны, основной механизм – “вырезать и вставить”). В XXI в. появление технологий следующего поколения (next generation sequencing, NGS) привело к существенному расширению данных о геноме и обнаружению новых типов мобильных элементов, в результате чего в 2007 г. была предложена иерархическая классификация, основанная на структурных характеристиках МГЭ и способах репликации [цит. по 1, 20]. Наконец, в 2017 г. составлена новая трёхсторонняя классификация мобильных элементов с учётом их репликативных, интегративных и структурных компонентов [1]. Остановимся на краткой характеристике некоторых из них.

*Плазмиды* представляют собой повсеместно распространённые экстрахромосомные генетические элементы, способные к полуавтономной репликации, размеры которых варьируют от нескольких пар оснований (base pair, kb) до мегаплазмид (>500 млн kb) [4, 8, 10, 23, 24]. Одним из путей ГПГ в бактериальных популяциях является конъюгация, часто встречающаяся в мире прокариот и обеспечивающаяся конъюгативными

плазмидами [23, 24] (см. рис. 1). Эти МГЭ считаются ключевыми платформами генетической транслокации и сохранения генов, ассоциированных с устойчивостью к антибиотикам и тяжёлым металлам, защитой от бактериофагов, персистенцией и вирулентностью бактерий, повышая их адаптационный потенциал к динамично изменяющимся условиям окружающей среды [8, 10, 23, 24]. За последние десятилетия по результатам филогенетического анализа было выделено целое семейство конъюгативных плазмид, прообраз которых в своё время впервые был описан Дж. Ледбергом как F-фактор [4, 8, 10, 23].

*Инсерционные последовательности (IS)* – простейшие и самые многочисленные МГЭ. Эти функциональные элементы были открыты при изучении модельных генетических систем благодаря их способности генерировать мутации в результате их транслокации [1, 3, 12]. К настоящему времени в бактериальных геномах обнаружено более 4000 IS [1, 21]. Они содержат единственный ген, кодирующий фермент транспаразу, окружённый инвертированными концевыми повторами и необходимый для собственной транслокации [2, 17, 20]. В отличие от других МГЭ для IS не требуется строгого соответствия концевых ДНК-последовательностей с интегрируемым сайтом-мишенью. Это свойство определяет значительность влияния IS на формирование бактериального генома и способность формирования эволюционного преимущества прокариот за счёт модуляции метаболических процессов [2, 12]. В последние годы установлено, что IS широко представлены в геномах бактерий и играют важную роль в адаптивной эволюции прокариот [1, 12, 20, 21].

Другие МГЭ, такие как транспозоны, отличаются от IS тем, что они могут нести дополнительные гены, например, устойчивости к антибиотикам [3, 4], приобретения факторов патогенности или устойчивости к антимикробным средствам.

Бактериальные *интроны* (intron, In) в зависимости от вторичной структуры входят в группу I (In-I) или группу II (In-II), которые представляют собой большие РНК-фрагменты. Долгое время считалось, что эти ретромобильные элементы не приносят никакой пользы своим хозяевам-бактериям [1, 2, 13]. Но в недавних исследованиях Ф. Ларош-Джонстон с соавторами обнаружили новую функцию интрона группы II, которая расширяет генетическое разнообразие и общую сложность транскриптома бактерий [1, 13, 14]. In-II содержит открытую рамку считывания (open reading frame, ORF), которая кодирует образование рибопротеинового комплекса, обеспечивающего эффективный сплайсинг и синтез поверхностных белков у бактерий [1, 13, 14]. In-II используются в геномной инженерии (технология

TargeTron) для создания целевых нокаутов генов [1, 13].

**Транспозоны** (transposons, Tn) — МГЭ, получившие своё название от слова “транспозиция” — основного способа движения этих элементов, влекущих мутации и изменение количества ДНК в клетке. Tn присутствуют в геномах всех живых организмов и разделяются по механизмам транспозиции и интеграции на ретротранспозоны (элементы I класса) и ДНК-транспозоны (элементы II класса). Кроме того, Tn классифицируют на конъюгативные (СТn) и мобильные (MTn) [1, 25]. В отличие от последних, СТn способны к трансцеллюлярному бактериальному переносу с использованием механизма, подобного конъюгации [1, 4, 25]. По сравнению с плазмидами СТn не содержат точки начала репликации, поэтому для выживания они должны быть интегрированы в репликон. MTn не содержат областей, необходимых для интеграции и вырезания, поэтому для горизонтальной транслокации эти генетические элементы используют систему конъюгации плазмид или СТn [1, 25]. В отличие от IS транспозоны могут нести дополнительные гены, обеспечивающие, например, устойчивость к антимикробным средствам [1, 3, 25–27] или приобретение факторов патогенности [13, 25]. С момента их открытия всё больший интерес для изучения представляют механизмы персистенции бактерий и взаимодействия мобильных элементов с бактериальным геномом [1, 26–28].

**Интегроны** (integrons, Int). В середине 1950-х годов в Японии были выделены первые штаммы бактерий с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ). Однако только 20 лет спустя установили, что появление этих устойчивых фенотипов обусловлено конъюгативными плазмидами, а ещё через 10 лет было уточнено, что интегронами — мобильными элементами, расположенными в этих плазмидах [1, 29, 30]. Впоследствии было обнаружено, что эти МГЭ в сочетании с транспозонами представляют собой генетическую систему сайт-специфической рекомбинации, состоящую из гена интегразы (*intI*), сайта рекомбинации (*attI*) и промотора [29, 30]. Интегроны ответственны за интеграцию, экспрессию и обмен детерминантами (поли)резистентности к антибиотикам в бактериальных популяциях (преимущественно среди грамотрицательных прокариот) в виде генных кассет [1, 9, 29]. Их регулярно обнаруживают как в клинических изолятах человека и животных, так и в объектах окружающей среды [30]. Int разделяют на мобильные (MI) и хромосомные (CI), а также на три класса в зависимости от наличия в структуре типов гена *intI*, наиболее изученные из которых — Int класса I. Выделяют экологические Int, не имеющие генов устойчивости, однако несущие генные кассеты, дающие преимущество бактериаль-

ной клетке-хозяину в окружающей среде (например, к четвертичным аммониевым соединениям (*qac*) или сульфонамидам (*sulI*)) и включённые в транспозон Tn402 [1, 30]. Int обычно являются частью больших транспозонов, которые в свою очередь могут быть составной частью конъюгативных плазмид [1, 29, 30].

**Бактериофаги** — наиболее распространённые живые организмы на нашей планете [1, 21, 24, 31–33]. Присутствуя в любой бактериальной популяции и активно участвуя в формировании прокариот путём ГППГ, фаги играют важную роль в эволюции микроорганизмов за счёт увеличения скорости мутаций, рекомбинаций или адаптации [31, 33]. По современным представлениям сложная система взаимодействия “бактерия—фаг” сводится не только к лизису клетки-хозяина, но и к “одомашниванию” фагов, что приводит к адаптивным эволюционным изменениям и биоразнообразию прокариот. В связи с этим бактериофаги классифицируются на два вида: литические, вызывающие разрушение инфицированных бактерий, и умеренные, которые в качестве профагов интегрируются в геном бактерий, передавая им новые фенотипические и вирулентные свойства (производство токсинов, молекул клеточной адгезии, трансформация метаболизма, уклонение от иммунного ответа и др.) [1, 21, 24, 31].

Группы крупных интегративных элементов (бактериофаги, плазмиды и большие части генома), кодирующих один или несколько генетических локусов, называются геномными островами (genomic islands, GI) [32–34]. В начале 1980-х годов у уropатогенных изолятов *E. coli* были открыты и охарактеризованы GI, несущие интегративные мобильные элементы, которые кодируют один или несколько паттернов вирулентности, отсутствующие в геномах непатогенных репрезентативных бактерий того же вида или близкородственных видов. Впоследствии они были названы *островками патогенности* (pathogenicity islands, PAIs) [35]. В отличие от других МГЭ PAIs неспособны к репликации и самомобилизации [33]. С помощью горизонтального переноса, путём трансдукции, трансформации и конъюгации эти гены переносятся от вирулентных видов бактерий непатогенным штаммам, в результате чего комменсалы становятся патогенами, способными вызывать различные инфекционные заболевания [32, 34, 35]. С тех пор PAIs были обнаружены у различных патотипов *E. coli* [32–34], а также прочих представителей семейства *Enterobacteriaceae* [32, 35] и других таксонов патогенных бактерий [32] (табл. 1).

Бактериальный геном содержит большое количество разнообразных МГЭ, находящихся в сложных взаимоотношениях с прокариотической клеткой (от паразитизма до мутуализма). Неслу-

**Таблица 1.** Участие мобильных элементов в формировании патогенного потенциала, адаптивной эволюции и персистенции бактерий

Мобильные генетические элементы	Примеры и механизмы участия
Плазмиды	<p>Ген устойчивости <i>bla<sub>NDM</sub></i> кодирует металло-β-лактамазу, способную гидролизовать большинство β-лактамовых антибиотиков. Переносится 20 типами плазмид среди 11 семейств грамотрицательных бактерий. Применение методов NGS* показало, что большинство изолятов <i>E. coli</i>, происходящих из окружающей среды или из клинических образцов, содержат одну или несколько F-подобных плазмид (например, MOB<sub>F12</sub>), которые обеспечивают резистентность и уропатогенность изолятов <i>E. coli</i> ST131 ExPEC</p>
Инсерционные последовательности	<p>Вставочные последовательности IS2D, IS2, IS5 совместно с транспозазой участвуют не только в обеспечении развития резистентности к бактериофагам у патогенных штаммов K1 <i>E. coli</i>, но и биосинтезе полисиаловой кислоты, участвующей в формировании капсулы, обуславливающей защиту от иммунной защиты и преодоление гематоэнцефалического барьера.</p> <p>В трёх разных штаммах <i>E. coli</i> (S17, DH5α и Nissle 1917) IS1 и IS10 быстро разрушали плазмидный ген <i>I-CeuI</i> (кодирующий эндонуклеазу I-CeuI)</p>
Интроны	<p>У нового возбудителя оппортунистических инфекций человека <i>Delfia tsuruhatensis</i> выявлено расширение генома интегронами различных классов путём ГПГ. Это повлекло за собой формирование новых генотипических и фенотипических профилей генов, связанных с вирулентностью (например, T2SS, которая участвует в секреции фактора колонизации кишечника, или локус <i>Tad pilus</i>, ответственный за адгезию и формирование биоплёнки) и устойчивостью к 15 антибиотикам</p>
Интегроны	<p>МЛУ 176 госпитальных штаммов <i>P. aeruginosa</i> ассоциирована с интегронами I класса. При этом большинство штаммов продуцировали пиовердин, ДНКазу, желатиназу и гемолизин.</p> <p>Резистентность <i>E. coli</i> к β-лактамовым антибиотикам в 72.7% ассоциирована с содержанием гена интегрон-интегразы 1 (<i>intI1</i>) и в 51.5% – с содержанием гена интегрон-интегразы 2 (<i>intI2</i>). Этим же классам интегროнов принадлежит ведущая роль в ГПГ в распространении генов, кодирующих паттерны вирулентности (адгезины, инвазины, сидерофоры, токсины, аутотранспортёры, а также гены, связанные с синтезом капсулы и биоплёнки) у основных патотипов <i>E. coli</i> (кишечный, уропатогенный, неонатальный, септический).</p> <p>Геномная кассета <i>dfp</i> была наиболее часто идентифицируемой среди интегрон-позитивных изолятов <i>E. coli</i>, обеспечивая резистентность и персистенцию энтеропатогенных видов</p>
Транспозоны	<p>Содержат гены, позволяющие патогенным бактериям выживать в особо сложных условиях (устойчивости к антибиотикам и кодирующие белки-транспортёры АВС, функционирующих за счёт энергии АТФ и ответственные за формирование МЛУ). Например, Tn 5397 и Tn 916 у <i>Clostridium difficile</i> обеспечивают устойчивость к тетрациклину и могут передаваться <i>Bacillus subtilis</i>, <i>E. faecalis</i> и <i>Streptococcus</i> spp. Tn 6104 и Tn 6104 кодируют у <i>C. difficile</i> три сигма-фактора и токсин-антитоксигеновую систему (ТАС), обеспечивающую персистенцию бактерий.</p> <p>Секвенирование транспозонов (Tn-seq) для идентификации генов, ассоциированных с персистенцией <i>P. aeruginosa</i> (был идентифицирован ген персистенции <i>carB</i>, кодирующий малую субъединицу карбамоилфосфатсинтетазы)</p>



Таблица 1. Окончание

Мобильные генетические элементы	Примеры и механизмы участия
Бактериофаги	Фаги <i>C. difficile</i> φCD119, φCD38-2 и φCD27 способны повышать и понижать продукцию токсинов; фаг ΦС2 обеспечивает трансдукцию гена устойчивости к антибиотикам. 55 полных профагов, обнаруженных в серовариантах O:3 и O:9 <i>Yersinia enterocolitica</i> , обуславливают их патогенные свойства
Островки патогенности	Геномные вариации на островках патогенности, кодирующих такие функции, как уреазная и гидрогеназная активность, метаболизм кофактора В-12, механизмы адаптации и колонизации кишечника энтеропатогенными видами <i>Yersinia</i> spp.

Примечание: \*NGS – методы секвенирования следующего поколения

Таблица 2. Эволюционные взаимодействия МГЭ с бактериальным геномом и их характеристика

Взаимодействие	Характеристика	Последствия
Приручение	Уменьшение и ограничение негативного влияния на чрезмерно высокую скорость транспозиции нового МГЭ как на структуру, так и на функцию генома хозяина	Это обратимый процесс, связанный с возможной эпигенетической регуляцией активности генов МГЭ в ответ на возникающий биотический или абиотический стресс и необходимостью бактерий адаптироваться к новым условиям окружающей среды
Одомашнивание	Установление устойчивых взаимодействий МГЭ с геномом клетки-хозяина, поддерживаемых на протяжении поколений	Приобретение, утрата или трансформация одного или нескольких признаков, которые могут оказывать значительное влияние на функционирование, организацию и эволюцию генома
Экзаптация	Признак, происхождение которого не является следствием естественного отбора, кооптируется для текущего использования	Последовательная эволюция признака или свойства посредством механизма естественного отбора и адаптации к новой функции

чайно с момента открытия их незаслуженно называли “эгоистичными” или “мусорными” ДНК, а в лучшем случае – “тёмной материей”. Благодаря своим свойствам, они обладают способностью быстро вторгаться в бактериальный геном, находиться в нём длительное время, покидать его или оседать в нём навсегда в ключевые моменты эволюции [22, 32]. Взгляд на мобильные элементы начал меняться с 1990-х годов, когда стали известными исследования, доказавшие адаптационное и эволюционное значение МГЭ для прокариот [1, 24, 30, 32].

Многообразие отношений с геномом клетки-хозяина зависит от видов бактерий, их физиологического состояния, типа мобильных элементов и нередко имеет неоднозначное влияние на клетку-хозяина [1, 2, 33]. Наглядным примером такого дуализма служат умеренные фаги, трансдукция которых в геном бактерии может обеспечить новые адаптивные свойства [2, 12, 33], однако их последующее удаление из генома, как правило, заканчивается гибелью клетки-хозяина [28]. Исход

отношений МГЭ с бактериальной клеткой нередко зависит от результатов взаимодействия на уровне мобильных элементов [34, 35].

Обычно после транслокации мобильных элементов в “родной” геном клетки-хозяина общая активность “генов-мигрантов” резко снижается, что сопровождается поддержанием очень ограниченного количества автономных копий [33]. Однако при этом некоторые гены МГЭ из-за их свойств или особого места вставки в геном бактериальной клетки могут специфическим образом функционировать через приручение, одомашнивание или экзаптацию [33, 35]. В связи с этим в последние годы всё большую популярность получает теория кооптации или “молекулярного одомашнивания” МГЭ и их фрагментов, кодируемых ими белков, а также коэволюции с геномом организма-хозяина [11, 18, 34, 35]. В основе этой теории лежит строгая дифференцировка указанных эволюционных взаимодействий (табл. 2).

По мнению Р. Дениза с соавторами, примером кооптации в микромире из недавних открытий в

молекулярной биологии служат некоторые новые и неожиданные функции бактериальных систем секреции белков [16]. В последние десятилетия ключевое значение таких систем у прокариот было выявлено для ряда биотических и абиотических взаимодействий. Эволюция многих систем оказалась следствием кооптации отдельных компонентов или целых функциональных модулей. Предполагается, что эволюция секреции белков бактерий происходила путём ГПГ, в результате чего появились системы, которые могут значительно отличаться от исходных [36, 37].

\* \* \*

Отдавая должное гениальности открытия мобильных генетических элементов, а также прозорливости Нобелевского комитета, отметившего этой почётной премией выдающийся вклад Барбары МакКлинток по прошествии десятков лет после её открытия, мы всё больше становимся сторонниками парадигмы нестабильности генома. Сегодня мы связываем с этим понятием адапционную эволюцию бактерий, менделевскую передачу паттернов эпигенетического наследования, обуславливающих биоразнообразие живого мира, и становимся свидетелями качественного перехода в изучении МГЭ [38–40].

Остаются нерешёнными вопросы в области биоинформатики, которая становится в настоящее время приоритетом в исследовании новых неизвестных типов МГЭ, а также проблемы отсутствия автоматизированных средств их идентификации [1, 40]. Приобретает особую важность систематизация всего многообразия мобильных элементов бактериального генома, определяющих структуру, функцию и эволюцию прокариот, влияющих на экспрессию или функциональность факторов патогенности, а в итоге – на клиническую картину и эффективность лечения инфекций [38].

Решение этих вопросов может поднять науку о бактериальном мобиломе на новый уровень и приблизить нас к пониманию полного влияния мобильных элементов на адаптацию, персистенцию и эволюцию патогенных бактерий. Конечно, для этого потребуются годы, но, как гласит мудрость китайского философа Лао-Цзы, “путь в тысячу ли начинается с первого шага”. А он уже сделан.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. *Arkhipova I.R.* Using bioinformatic and phylogenetic approaches to classify transposable elements and understand their complex evolutionary histories // *Mob. DNA.* 2017. V. 8. <https://doi.org/10.1186/s13100-017-0103-2>
2. *McClintock B.* Some parallels between gene control systems in maize and in bacteria // *Amer. Natur.* 1961. V. 95. P. 265–277.
3. *McClintock B.* The significance of responses of the genome to challenge // *Science.* 1984. V. 226. P. 792–801.
4. *Wang T., You L.* The persistence potential of transferable plasmids // *Nat. Commun.* 2020. V. 11. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-19368-7>
5. *Acman M., Wang R., van Dorp L. et al.* Role of mobile genetic elements in the global dissemination of the carbapenem resistance gene blaNDM // *Nat. Commun.* 2022. V. 13 (1). <https://doi.org/10.1038/s41467-022-28819-2>
6. *Rybak B., Krawczyk B., Furmanek-Blaszk B. et al.* Antibiotic resistance, virulence, and phylogenetic analysis of *Escherichia coli* strains isolated from free-living birds in human habitats // *PLoS One.* 2022. V. 17 (1). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0262236>
7. *Durrant M.G., Li M.M., Siranosian B.A. et al.* A Bioinformatic Analysis of Integrative Mobile Genetic Elements Highlights Their Role in Bacterial Adaptation // *Cell Host & Microbe.* 2020. V. 27 (1). P. 140–153.
8. *Yang X., Dong N., Chan E.W. et al.* Carbapenem Resistance-Encoding and Virulence-Encoding Conjugative Plasmids in *Klebsiella pneumoniae* // *Trends in Microbiol.* 2021. V. 29 (1). P. 65–83.
9. *Timmons C.M., Shazib S.U.A., Katz L.A.* Epigenetic influences of mobile genetic elements on ciliate genome architecture and evolution // *J. Eukaryot. Microbiol.* 2022. <https://doi.org/10.1111/jeu.12891>
10. *Zhao X., Gao L., Huang H. et al.* Exploring the pathogenic function of *Pantoea ananatis* endogenous plasmid by an efficient and simple plasmid elimination strategy // *Microbiol. Res.* 2021. V. 246. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2021.126710>
11. *Sabbagh P., Rajabnia M., Maali A., Ferdosi-Shahandashti E.* Integron and its role in antimicrobial resistance: A literature review on some bacterial pathogens // *Iran J. Basic. Med. Sci.* 2021. V. 24 (2). P. 136–142.
12. *Cameron D.R., Shan Y., Zalis E.A. et al.* A Genetic Determinant of Persister Cell Formation in Bacterial Pathogens // *J. Bacteriol.* 2018. V. 200 (17). <https://doi.org/10.1128/JB.00303-18>
13. *Desvaux M., Dalmasso G., Beyrouthy R. et al.* Pathogenicity Factors of Genomic Islands in Intestinal and Extraintestinal *Escherichia coli* // *Front. Microbiol.* 2020. V. 11. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.02065>
14. *Yin Z., Liu X., Qian C. et al.* Pan-Genome Analysis of *Delftia tsuruhatensis* Reveals Important Traits Concerning the Genetic Diversity, Pathogenicity, and Biotechnological Properties of the Species // *Microbiol. Spectr.* 2022. V. 10 (2). <https://doi.org/10.1128/spectrum.02072-21>
15. *Nicolau M., Picault N., Moissiard G.* The Evolutionary Volte-Face of Transposable Elements: From Harmful Jumping Genes to Major Drivers of Genetic Innovation // *Cells.* 2021. V. 10 (11). <https://doi.org/10.3390/cells10112952>

16. *Denise R., Abby S.S., Rocha E.P.C.* The Evolution of Protein Secretion Systems by Co-option and Tinkering of Cellular Machineries // *Trends in Microbiol.* 2020. V. 28 (5). P. 372–386.
17. *Vale F.F., Lehours P., Yamaoka Y.* Editorial: The Role of Mobile Genetic Elements in Bacterial Evolution and Their Adaptability // *Front. Microbiol.* 2022. V. 13. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.849667>
18. World Health Organization official website. 2021. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance> (дата обращения 03.01.2022).
19. *de Korne-Elenbaas J., Bruisten S.M., van Dam A.P. et al.* The Neisseria gonorrhoeae Accessory Genome and Its Association with the Core Genome and Antimicrobial Resistance // *Microbiol. Spectr.* 2022. <https://doi.org/10.1128/spectrum.02654-21>
20. *Ribatti D.* François Jacob, Lysogeny, and the Development of the Operon Model // *Crit. Rev. Eukaryot. Gene Expr.* 2020. V. 30 (5). P. 443–446.
21. *Hussain F.A., Dubert J., Elsherbini J. et al.* Rapid evolutionary turnover of mobile genetic elements drives bacterial resistance to phages // *Science.* 2021. V. 374 (6566). P. 488–492.
22. *Fan C., Wu Y.H., Decker C.M. et al.* Defensive Function of Transposable Elements in Bacteria // *ACS Synth. Biol.* 2019. V. 8 (9). P. 2141–2151.
23. *Xu Y., Zhang J., Wang M. et al.* Mobilization of the non-conjugative virulence plasmid from hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* // *Genome Med.* 2021. V. 13 (1). <https://doi.org/10.1186/s13073-021-00936-5>
24. *Ladd M., Bordoni B.* Genetics, Transposons // In: *StatPearls* [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2022.
25. *Banaszkiewicz S., Calland J.K., Mourkas E. et al.* Genetic Diversity of Composite Enterotoxigenic *Staphylococcus epidermidis* Pathogenicity Islands // *Genome Biol. Evol.* 2019. V. 11 (12). P. 3498–3509.
26. *Makałowski W., Gotea V., Pande A., Makałowska I.* Transposable Elements: Classification, Identification, and Their Use As a Tool For Comparative Genomics // *Methods Mol. Biol.* 2019. V. 1910. P. 177–207.
27. *Sandoval-Villegas N., Nurieva W., Amberger M., Ivics Z.* Contemporary Transposon Tools: A Review and Guide through Mechanisms and Applications of Sleeping Beauty, piggyBac and Tol2 for Genome Engineering // *Int. J. Mol. Sci.* 2021. V. 22 (10). <https://doi.org/10.3390/ijms22105084>
28. *Akrami F., Rajabnia M., Pournajaf A.* Resistance integrons. A Mini review // *Caspian J. Intern. Med.* 2019. V. 10 (4). P. 370–376.
29. *Rodulfo H., Arcia A., Hernández A. et al.* Virulence factors and integrons are associated with MDR and XDR phenotypes in nosocomial strains of *Pseudomonas aeruginosa* in a Venezuelan university hospital // *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo.* 2019. V. 61. <https://doi.org/10.1590/S1678-9946201961020>
30. *Humphrey S., San Millán Á., Toll-Riera M. et al.* Staphylococcal phages and pathogenicity islands drive plasmid evolution // *Nat. Commun.* 2021. V. 12 (1). <https://doi.org/10.1038/s41467-021-26101-5>
31. *Watson B.N.J., Steens J.A., Staals R.H.J. et al.* Coevolution between bacterial CRISPR-Cas systems and their bacteriophages // *Cell Host & Microbe.* 2021. V. 29 (5). P. 715–725.
32. *Ibarra-Chávez R., Brady A., Chen J. et al.* Phage-inducible chromosomal islands promote genetic variability by blocking phage reproduction and protecting transductants from phage lysis // *PLoS Genet.* 2022. V. 18 (3). <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1010146>
33. *Liang J., Kou Z., Qin S. et al.* Novel *Yersinia enterocolitica* Prophages and a Comparative Analysis of Genomic Diversity // *Front. Microbiol.* 2019. V. 10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01184>
34. *Novick R.P.* Pathogenicity Islands and Their Role in Staphylococcal Biology // *Microbiol. Spectr.* 2019. V. 7 (3). <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.GPP3-0062-2019>
35. *Messerer M., Fischer W., Schubert S.* Investigation of horizontal gene transfer of pathogenicity islands in *Escherichia coli* using next-generation sequencing // *PLoS One.* 2017. V. 12 (7). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0179880>
36. *Lou L., Zhang P., Piao R., Wang Y.* Salmonella Pathogenicity Island 1 (SPI-1) and Its Complex Regulatory Network // *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2019. V. 9. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2019.00270>
37. *Rocha E.P.C., Bikard D.* Microbial defenses against mobile genetic elements and viruses: Who defends whom from what? // *PLoS Biol.* 2022. V. 20 (1). <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3001514>
38. *Almeida M.V., Vernaz G., Putman A.L.K., Miska E.A.* Taming transposable elements in vertebrates: from epigenetic silencing to domestication // *Trends. Genet.* 2022. V. 38 (6). P. 529–553.
39. *Capu P.* Taming, Domestication and Exaptation: Trajectories of Transposable Elements in Genomes // *Cells.* 2021. V. 10 (12). <https://doi.org/10.3390/cells10123590>
40. *Espinosa-Camacho L.F., Delgado G., Cravioto A., Morales-Espinosa R.* Diversity in the composition of the accessory genome of Mexican *Pseudomonas aeruginosa* strains // *Genes Genomics.* 2022. V. 44 (1). P. 53–77.