

УДК 577.11

СИСТЕМЫ ТОКСИН–АНТИТОКСИН БАКТЕРИЙ И ПЕРСПЕКТИВЫ ИХ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В МЕДИЦИНЕ (ОБЗОР)

© 2013 г. О. И. Демидёнок, А. В. Гончаренко

Институт биохимии им. А.Н. Баха РАН, Москва, 119071

e-mail: demidenoksana@gmail.com

Поступило в редакцию 19.12.2012 г.

В обзоре рассматриваются структуры различных токсин-антитоксиновых (ТА) семейств и принципы их функционирования. ТА локусы имеют широкое распространение в геномах эубактерий и архей. Большинство ТА систем двухкомпонентны, принцип работы у всех ТА систем похож и заключается в нарушении стабильным токсином важнейших клеточных функций и его инактивации лабильным антитоксином.

DOI: 10.7868/S055510991306007X

Впервые гены, кодирующие двухкомпонентную систему токсин-антитоксин (ТА) были описаны в 80-е годы прошлого века как гены плазмид, которые обеспечивают поддержание и наследование малокопийных плазмид в бактериальной клетке [1]. В настоящий момент опубликовано большое количество обзорных работ о ТА системах, но в русскоязычной научной литературе такой обзор один [2]. Принцип действия у всех ТА систем заключается в том, что стабильный белок токсин нарушает клеточные функции, лабильный антитоксин связывает токсин и таким образом его инактивирует. При делении бактерии дочерние клетки получают часть токсина и антитоксина материнской клетки. Если дочерняя клетка не получила плазмиду, кодирующую синтез токсина и антитоксина, унаследованный с цитоплазмой антитоксин разрушается, освобождая стабильный токсин. Таким образом, клетки, сохранившие плазмиду, не подвергаются воздействию токсина и имеют росто-вые преимущества. Относительно недавно с помощью биоинформационных методов были идентифицированы хромосомные гомологи плазмидных ТА систем у большого количества бактерий и архей [3]. Если в случае плазмидных ТА генов их функция очевидна, то биологический смысл хромосомных токсинов, направленных на саму бактерию, остается открытым и является предметом интенсивных исследований, о чем можно судить по возрастающему количеству публикаций [4–6]. В геномах бактерий ТА локусы, как правило, множественны и одна бактерия может содержать несколько ТА систем разных семейств. Однако у облигатных внутриклеточных паразитов, таких, как *Mycobacterium leprae*, *Chlamydia muridarum*, *C. trachomatis*, *C. caviae*, *C. pneumoniae* или у бактерий, живущих в близкой паразитической или симбиотической ассоциации с другими организмами,

локусы ТА отсутствуют [3]. Таким образом, бактерии, живущие в условиях постоянства внешней среды, лишены ТА локусов, что наводит на мысль об участии продуктов ТА локусов в механизмах адаптации к изменяющимся условиям существования и к стрессовым условиям. Отмечено, что у бактерий, характеризующихся низкими скоростями роста, количество ТА локусов значительно больше, чем у быстрорастущих видов (*Mycobacterium tuberculosis* – 80 локусов, *Vibrio cholerae*, *Salmonella spp.*, *M. smegmatis* – 3 локуса) [3].

ПРИНЦИП ОРГАНИЗАЦИИ ТА СИСТЕМ

Все ТА системы имеют сходную структурную организацию: гены антитоксина и токсина находятся в одном опероне, как правило, перекрываются в областях старт и стоп кодонов, ко-транскрибируются и ко-транслируются [7]. В оптимальных условиях роста белок токсин в клетках находится в неактивном состоянии в комплексе с антитоксином. Уровень транскрипции ТА оперона низок за счет связывания свободного антитоксина или антитоксина в составе ТА комплекса с промоторной частью собственного оперона [8]. Однако свободный антитоксин обладает меньшей аффинностью по отношению к оператору промоторной области по сравнению с антитоксином ТА комплекса [9]. При попадании бактерии в стрессовые условия (аминокислотное или углеродное голодание) в цитоплазме активируется клеточные протеиназы, которые разрушают антитоксин, что приводит к лавинообразному нарастанию концентрации свободного белка токсина и остановке клеточного роста или к смерти бактерии [10, 11].

Основываясь на природе антитоксина и его способе действия, ТА системы разделяют на 3 типа. Антитоксины I и III типа представляют собой

небольшие РНК, которые подавляют либо экспрессию токсина (тип I), либо его активность (тип III) [12, 13]. Антитоксины типа II являются белками, которые инактивируют токсины, связывая их в нейтральный комплекс [14]. Большинство ТА систем относятся к типу II. Токсиновые компоненты всех ТА систем — это белки, ингибирующие такие важные клеточные процессы, как репликация, трансляция, синтез компонентов клеточной стенки. Основываясь на природе токсина, ТА локусы были классифицированы в несколько семейств (*vapBC*, *relBE*, *mazEF*, *ccd*, *parDE*, *phd/doc*, *higBA*, *hipBA*). Данные семейства различаются мишенями и способами действия, а также структурой кодируемых белков. Так, CcdB и ParE токсины являются ингибиторами фермента ДНК — гиразы [15, 16]; RelE, Doc и HigB токсины разрушают мРНК, связанную с рибосомами [17–19]; HipA ингибирует элонгацию полипептидной цепи, фосфорилируя фактор элонгации Tu [20], VapC и MazF токсины являются РНКазами и разрушают свободные мРНК и тРНК [21, 22].

Семейство *mazEF*. Гены данного семейства локусов были обнаружены одними из первых [23]. На сегодняшний день механизм действия, регуляции, генетическая организация и функции *mazEF* изучены наиболее подробно по сравнению с другими семействами.

Как и подавляющее большинство ТА систем *mazEF* имеет стандартную генетическую организацию [24]. Оперон *mazEF* образуют частично перекрывающиеся гены *mazE* и *mazF*, кодирующие синтез, соответственно, стабильного белка токсина MazF и лабильного антитоксина MazE, который *in vivo* деградируют АТФ — зависимые сериновые протеиназы. Стоит отметить, что в опероне, помимо генов *mazE* и *mazF*, располагается ген *relA*, кодирующий синтез ppGpp — синтетазы. Белок RelA катализирует образование нуклеотида ppGpp, уровень которого в клетке, в свою очередь, регулирует уровень экспрессии локуса *mazEF* [24, 25]. В цитозоле клетки белки формируют нейтральный комплекс, который, связываясь с промоторной областью P₂, регулирует транскрипцию генов локуса [26, 27]. Антитоксин MazE связывает в нейтральный комплекс две молекулы MazF. Предполагается, что структура антитоксина MazE имитирует одноцепочечную структуру мРНК, что приводит к связыванию токсина MazF и, как следствие, ингибированию его эндорибонуклеазной активности [28, 29]. Молекула токсина MazF имеет два сайта связывания с антитоксином. Таким образом, белки могут формировать довольно длинный линейный олигомер, состоящий из перемежающихся MazE и MazF [26].

Механизм действия токсина MazF. Токсин MazF — это эндорибонуклеаза, которая ингибирует процесс трансляции в клетке, гидролизует

фосфодиэфирные связи. Показано, что для *Escherichia coli* гидролиз осуществляется по АЦА последовательности на 5'-конце мРНК [23, 30]. В отличие от эндорибонуклеаз других ТА семейств (например, RelE), MazF расщепляет мРНК, не связанные с рибосомами [23].

Помимо мРНК, мишенью для токсина MazF может также служить и тмРНК, которая представляет собой гибрид мРНК и тРНК, способный осеждать рибосомы, связываясь с их А-сайтом, на котором располагается поврежденная мРНК [31].

Примечательно, что мРНК, кодирующая синтез токсина MazF, содержит много последовательностей АЦА: внутри открытой рамки считывания их насчитывается 9 АЦА, 4 из которых располагаются в центре рамки. Возможно, что трансляция MazF отрицательно регулируется им же [26].

В геномах различных бактерий было обнаружено множество хромосомных гомологов локусов *mazEF*. Гомологи токсина MazF также обладают эндорибонуклеазной активностью, однако последовательность, по которой происходит разрезание мРНК, у них другая [26].

Семейство *relBE*. Впервые гены локуса *relBE* были обнаружены в геноме *E. coli* [32, 33] а позже и в геномах других эубактерий и архей [34]. Локус *relBE* состоит из двух частично перекрывающихся генов, *relE* и *relB*, кодирующих, соответственно, синтез токсина RelE и антитоксина RelB [7].

Токсин RelE формирует плотный комплекс с антитоксином RelB, в результате чего инактивируется [35]. Комплекс RelB/RelE авторегулирует транскрипцию локуса *relBE*, связываясь через антитоксин с промоторной областью оперона. Свободный антитоксин RelB так же, как в большинстве ТА систем, может регулировать собственный промотор [36]. Степень связывания RelB с промоторной областью локуса зависит от соотношения RelE/RelB. В присутствии большого количества токсина RelE в клетке снижается аффинность RelB к промоторной области и возобновляется транскрипция локуса *relBE* [36].

Механизм действия токсина RelE. RelE — эндорибонуклеаза, структурно похожая на группу сайт-специфических эндорибонуклеаз, которые расщепляют свободную мРНК [37]. Однако в активном центре токсина отсутствуют аминокислотные остатки, которые позволяют осуществлять гидролиз мРНК, не связанных с рибосомами [17, 37]. Поэтому для активности токсина RelE необходимо присутствие рибосом (а именно, 16S рРНК), которые обеспечивают правильное ориентирование мРНК для действия RelE [37].

Спорным является вопрос специфичности гидролиза РНК, вызываемого RelE. С одной стороны, *in vitro* показано, что гидролиз мРНК, обусловленный действием RelE, происходит между 2 и 3 основаниями преимущественно стоп-кодо-

нов (УАГ, УАА, УГА), а также некоторых смысловых кодонов (ЦАГ, УЦГ, ЦАГ) [17]. В экспериментах *in vivo* специфичность гидролиза не была подтверждена [38].

Семейство *phd/doc*. Лocus *phd/doc* был впервые обнаружен в составе бактериофага P1 *E. coli*, наследуемого клетками как низкокопийная плазида [39]. Гены, кодирующие белки Phd и Doc, располагаются в одном опероне. Ген *doc* кодирует небольшой токсичный белок Doc, ген *phd* – антитоксин Phd, нейтрализующий Doc [40, 41]. Белок антитоксин лабилен и подвержен действию клеточных протеиназ [42].

В цитозоле клетки белки Phd и Doc формируют комплекс, состоящий из одной молекулы токсина Doc и двух молекул антитоксина Phd. Образование данного комплекса сопровождается изменениями вторичной структуры белка Phd. Белковый комплекс Phd/Doc формируется при низких концентрациях компонентов, нестабилен, присутствует в клетке в очень небольших количествах и имеет очень короткий промежуток жизни [43].

Антитоксин Phd – ДНК-связывающий белок, который ингибирует транскрипцию собственного гена, связываясь с операторной областью локуса. Связывание операторной части локуса и ингибирование его транскрипции антитоксином усиливается в присутствии токсина Doc [43, 44].

Механизм действия токсина Doc. Механизм действия токсина Doc сходен с механизмом действия аминогликозидных антибиотиков (например, гиромидина) [45]. Токсичный белок Doc взаимодействует с 30S субъединицей рибосомы, тем самым ингибируя этап элонгации полипептидной цепи. Токсин препятствует переходу пептидил – тРНК с А-сайта рибосомы на Р-сайт, что приводит к накоплению так называемых “застывших” рибосом по всей длине активно транслируемой мРНК. [46].

Хромосомные гомологи семейства *phd/doc* были обнаружены в геномах широкого круга бактерий и некоторых архей [3].

Семейство *varBC*. Локусы *varBC* (*virulence associated proteins*) представляют собой самое большое из 9 известных и описанных семейств [47, 48]. Впервые locus *varBC* был обнаружен в составе плазмиды, обуславливающей вирулентность *Salmonella dublin* [49]. Данный locus имеет такую же генетическую организацию, которая свойственна всем *bona fide* ТА системам: два частично перекрывающихся гена – *varB* и *varC* – кодируют синтез соответствующих белков: антитоксина VarB и токсина VarC.

Белки токсин и антитоксин семейства *varBC* в цитозоле клетки образуют нейтральный комплекс. [50]. Белковый комплекс VarB/VarC осуществляет регуляцию транскрипции своего локуса по следующему принципу: при избытке антитоксина,

комплекс данных белков связывается с промоторной областью оперона и подавляет транскрипцию. Если же отношение VarC/VarB высокое, то избыточное количество токсина приводит к дестабилизации комплекса VarBC с оператором, возобновлению транскрипции оперона *varBC* и синтеза токсина и антитоксина [51]. Такая зависимость закрытости промотора от количества токсина имеет биологический смысл, так как иначе трудно представить, как клетка справляется с избытком токсина, накопившегося в связи с возрастанием уровня протеиназ.

Механизм действия токсина VarC. Токсин VarC принадлежит семейству PIN – доменовых белков. PIN – домены характерны для Mg²⁺- или Mn²⁺-зависимых нуклеаз [52]. У прокариот подавляющее большинство PIN-доменовых белков являются токсическими компонентами ТА систем. PIN-домены были обнаружены у эукариот, архей и почти у многих секвенированных прокариот, включая множество важных патогенов, таких, как *Neisseria gonorrhoeae* [53, 54] и *M. tuberculosis* [55, 56].

Несмотря на то, что неоднократно была продемонстрирована неспецифическая рибо- и дезоксирибонуклеазная активность токсина VarC *in vitro*, конкретная мишень белка оставалась до недавнего времени неизвестной [56–59]. Однако недавно было обнаружено, что VarC токсин *Shigella flexneri* представляет собой сайт-специфическую эндорибонуклеазу, которая разрезает инициаторную тРНК по всей длине на небольшие фрагменты между основаниями шпильчатой структуры антикодона [22].

Семейство *hipBA*. Семейство *hipBA* (*high persistence*) было изучено в основном на клетках *E. coli* [60]. Два частично перекрывающихся гена *hipB* и *hipA* кодируют синтез белков антитоксина HipB и токсина HipA, соответственно. Антитоксина HipB, как и большинство антитоксинов, является ДНК-связывающим белком, что позволяет ему не только контролировать активность токсина, образуя с ним нейтральный комплекс, но и регулировать транскрипционную активность локуса *hipBA*, связываясь с операторной частью промотора [61, 62]. В комплексе HipA–HipB–ДНК молекула антитоксина HipB как бы “зажата” с каждой стороны молекулами токсина hipA [63].

Механизм действия HipA. Структуры белка HipA гомологична структуре циклинзависимых протеиназ эукариот [64]. В силу этой особенности, а также того факта, что для токсина HipA характерна высокая степень аффинности к АТФ, данный белок относят к классу серинтреонинподобных киназ эукариот [63]. Было показано, что один из клеточных белков, фактор элонгации Tu (EF–Tu) подвергается фосфорилированию по Thr³⁸² неизвестной киназой [65, 66]. Возможно, что неизвестная киназа – это токсин HipA, так как было установлено, что в присутствии ГТФ и

АТФ и Mg^{2+} EF-Tu может взаимодействовать с HrpA [63]. Вероятно, HrpA фосфорилирует фактор элонгации Tu по Thr³⁸², в результате чего происходят конформационные изменения белка и он теряет способность связываться с аминоксил-тРНК [63]. Однако помимо указанной, предполагается также наличие и других клеточных мишеней HrpA [67, 68].

Семейство *parDE*. Система генов *parDE* широко представлена в геномах многих микроорганизмов в составе низкокопийной плазмиды pRK2/RP4 [3].

Так же, как и в большинстве ТА систем, токсин ParE является положительно заряженным белком, который способен образовывать комплекс с отрицательно заряженным белком антитоксином ParD, меньшим по размеру [69]. Антитоксин ParD включает в себя два функционально и структурно различных региона [70]. С помощью одного из них ParD авторегулирует локус *parDE* [71, 72], а за счет другого региона осуществляется связывание с токсином и его нейтрализация [73, 74]. В результате взаимодействия белков образуется ParE/ParD комплекс, который предотвращает действия токсина ParE [75].

Механизм действия токсина ParE. Токсин ParE ингибирует репликацию ДНК в клетке путём инактивации фермента ДНК-гиразы. Токсин взаимодействует с ферментом только на определенном этапе процесса суперспирализации ДНК; образование комплекса “токсин–ДНК–гираза” сопровождается гидролизом АТФ [16].

Семейство *higBA*. Первоначально, *higBA* (“host inhibition of growth”) был открыт как ТА локус, обеспечивающий стабилизацию плазмиды Rts1, которая обычно реплицируется в клетках *Proteus* spp. и обуславливает устойчивость клеток к канамицину [7]. Хромосомные гомологи этого семейства были обнаружены в 200 бактериальных геномах, в том числе таких патогенов, как *Vibrio cholerae* и *Streptococcus pneumoniae* [3].

От других известных ТА систем локус *higBA* отличается его генетическая организация: ген *higB*, кодирующий токсин, находится перед геном *higA*, кодирующим антитоксин, тогда как все известные ТА модули имеют прямо противоположное расположение генов. Очищенные белки HigA и HigB формируют стабильный комплекс, в котором оба белка находятся в эквимольных количествах [76].

Механизм действия токсина HigB. Взаимодействие токсина HigB с 50 S субъединицей рибосомы приводит к изменениям его структуры и активирует его сайт-специфическую эндорибонуклеазную активность [76], гидролизуя транслируемую мРНК по всей длине всех имеющихся ААА триплетов. Разрезание мРНК может происходить как внутри рамки считывания, так и вне ее. Помимо ААА триплетов, правда с гораздо меньшей эффектив-

ностью разрезания, мишенью HigB может стать и АА последовательность и даже отдельные А основания [76].

ПРЕДПОЛАГАЕМЫЕ ФУНКЦИИ ТА СИСТЕМ

В настоящее время существует множество работ, посвященных изучению функций ТА систем [77–82]. Поскольку частичные удаления ТА локусов не приводили ни к каким физиологическим изменениям у бактерий, существовало мнение, что гены токсина–антитоксина не что иное как “генетический мусор” [83, 84]. Результаты таких работ теперь можно объяснить тем, что в геномах бактерий содержится большое количество ТА локусов, и удаление их части может не давать выраженных фенотипических изменений. Кроме того, удаление ТА локусов может проявить себя только в особых, стрессовых для бактерии условиях.

По мере исследования структуры и механизмов действия ТА систем стали появляться предположения, что ТА гены участвуют в сохранении целостности генома клеток. К примеру, для локуса *parDE* было показано, что он предотвращает потерю хромосом [85]. Как известно, геном всех членов рода *Vibrionaceae* состоит из двух хромосом. В результате потери хромосомы II, наблюдался процесс деградации оставшейся в клетке хромосомы I. Повреждения, которым при этом подвергалось ДНК, были аналогичны тем, которые обусловлены действием токсина ParE, что, в конечном счете, приводит к смерти клетки [86].

Согласно предположению Ханны Энгельберг–Кульки, ТА системы могут принимать участие в запуске “программируемой клеточной смерти” (ПКС), что было продемонстрировано на клетках *E. coli* при индукции экспрессии токсина MazF. ПКС – активный процесс, позволяющий выжить здоровой части бактериальной популяции, к примеру, при фаговом поражении клеток [87]. Оказалось, что способность MazF индуцировать ПКС зависит от плотности популяции. В ответ на стрессовое воздействие антибиотиками в клетках начинают накапливаться сигнальные молекулы EDF (Extracellular Death Factor). Накопление EDF приводит к активации токсина MazF, что в свою очередь приводит к увеличению синтеза EDF и, как следствие, к гибели клетки [88].

Бактерицидный эффект гиперэкспрессии MazF был продемонстрирован также на клетках *M. smegmatis*. Экспрессия токсина MazF останавливала клеточный рост и приводила к падению количества колониеобразующих единиц на два порядка [89].

При определенных условиях эффект MazF может носить бактериостатический, обратимый характер. Однако после прохождения бактериями,

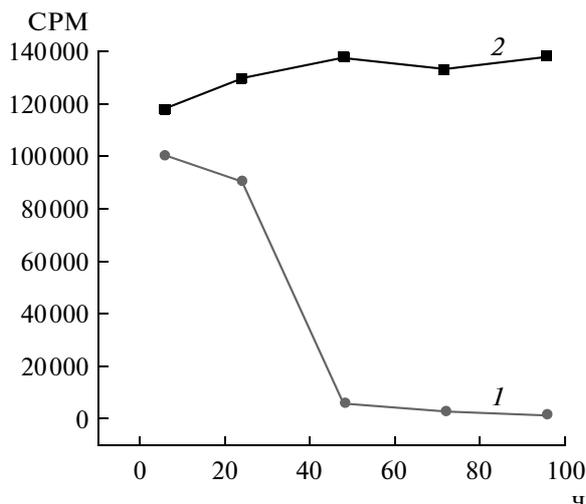


Рис. 1. Включение 5,6-Н³ урацила в клетках *M. smegmatis* с экспрессией токсина *VapC* (1) и штамма дикого типа (2).

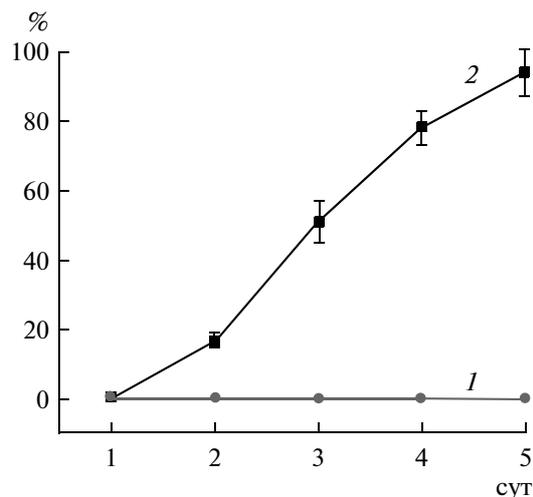


Рис. 2. Динамика образования покоящихся форм клетками *M. smegmatis* с гиперэкспрессией антитоксина *VapB* (1) и штамма дикого типа (2).

экспрессирующими *MazF*, так называемой “точки невозврата” бактериостатическое действие токсина переходит в бактерицидное [90]. Однако действие большинства токсинов носят все же бактериостатический, обратимый характер [91].

Обратимость действия токсинов послужила основанием для предположения об участии ТА систем в адаптации бактерии к стрессовым условиям, а именно, была обнаружена связь между ТА системами и явлением бактериальной персистенции. Основанием для предположения об участии ТА систем в бактериальной персистенции послужило обнаружение гена *hipA* (high persistence), мутации в котором привели к увеличению количества персистирующих клеток [60, 67, 68]. Суть данного явления заключается в том, что при воздействии антибиотиками на бактериальную популяцию определенное количество клеток (10^{-6} в экспоненциальной культуре, 10^{-2} в стационарной) выживает [92]. Такие клетки называют персистирующими и они характеризуются только фенотипической устойчивостью, т.е. никаких генетических изменений эти клетки не претерпевают, и их потомство остается чувствительным к воздействию антибиотиков. Фенотипическая устойчивость обусловлена особым физиологическим состоянием бактерии, вероятно, остановкой или замедлением тех процессов, на которые направлено действие антибиотиков.

Настоящим прорывом в понимании роли ТА локусов в явлении фенотипической устойчивости являются работы Кена Гердеса, в которых была установлена прямая связь между наличием ТА локусов и количеством персистирующих клеток [93]. Авторы показали, что при последовательном удалении ТА локусов из генома *E. coli* количество

персистирующих клеток в бактериальной популяции падает. Тот же эффект был получен при удалении гена, кодирующего синтез *Lon* протеиназы, контролирующей количество антитоксина в клетке [93].

Особый интерес вызывают множественные ТА локусы *M. tuberculosis*, в связи со способностью этой бактерии образовывать покоящиеся формы, с которыми связывают латентный туберкулез, не поддающийся терапии антибиотиками. Предполагается, что ТА системы играют роль в формировании покоящегося состояния микобактерий, в частности латентного туберкулеза [91].

Согласно нашим неопубликованным данным, продукты локуса семейства *vapBC* принимают участие в формировании покоящегося состояния *M. smegmatis*. Экспрессия токсина *VapC* приводит к изменению морфологии клеток и падению уровня метаболической активности практически до нуля (рис. 1). В то же время при гиперэкспрессии антитоксина *VapB* бактериальные клетки теряют способность переходить в состояние покоя в модельном эксперименте образования покоящихся форм (рис. 2).

Мы полагаем, что персистенция и покой не являются синонимами. Состояние покоя характеризуется отсутствием метаболической активности, зачастую сопровождается некультивируемостью. Кроме того, клетки в покоящемся состоянии могут сохраняться в течение длительного времени [94]. О свойствах персистирующих клеток мы можем только предполагать, так как их количество чрезвычайно мало и нет возможности работать с ними непосредственно. Персистенцию связывают с флуктуациями количества *Lon* протеиназы, *ppGpp*, и, соответственно, уровнем токсина [95], которые

носят кратковременный характер. Возможно, в основе персистенции и покоя лежат общие механизмы, требующие изучения. Вероятно, что ТА системы лежат в основе механизмов формирования покоя и персистенции.

ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ТА ЛОКУСОВ В ФАРМАКОЛОГИИ И МЕДИЦИНЕ

ТА системы были идентифицированы в геномах многих патогенов, в том числе и устойчивых к антибиотикам. Бактерицидное/бактериостатическое действие токсинов позволяет рассматривать ТА системы как весьма привлекательные мишени для разработки принципиально новых антибактериальных препаратов. Самым очевидным является создание лекарственных препаратов на основе веществ, блокирующих действие антитоксина. Такое действие приведет к накоплению свободного токсина в клетках, что в конечном итоге приведет к клеточной гибели.

Увеличение количества свободного токсина можно достичь также поддержанием высокого уровня транскрипции ТА локусов. В этом случае повысится концентрация в бактериальной клетке как токсина, так и антитоксина. Но учитывая относительно короткое время жизни антитоксина, особенно при активации внутриклеточных протеиназ, можно предположить, что его количества будет недостаточно для инактивации всего свободного токсина. Реализация такого подхода возможна через разработку лекарственного препарата, препятствующего связыванию ТА комплекса с промоторной областью, что приведет к разблокировке ТА промотора и увеличению уровня транскрипции.

Для *mazEF*⁺ бактерий перспективно использование синтетических аналогов сигнальных молекул EDF как активаторов токсина MazF [98].

Но возможен другой, диаметрально противоположный подход. Этот подход связан с предположением, что токсины ТА семейств участвуют в формировании популяции персистирующих клеток и покоящихся форм бактерий, невосприимчивых к действию антибиотиков. Можно предположить, что инактивация токсинов приведет к снижению субпопуляции покоящихся бактерий и, соответственно, к повышению эффективности антибиотических препаратов. В этой связи можно предположить, что комбинированное использование антибиотикотерапии и ингибитора токсинов у больных с острой формой инфекционных заболеваний, например туберкулеза, не позволит болезням перейти в латентную стадию.

Другое направление, связанное с ТА локусами, может состоять в создании новых вакцинных препаратов на основе живых бактерий с низким по-

тенциалом реактивации. Например, антитуберкулезная вакцина БЦЖ низкоэффективна и иногда осложняется реактивацией бактерии (развитием так называемых “бецжитов”), особенно при иммунодефицитных состояниях. Предпринимаются попытки создания новой живой вакцины и, например, дополнительная аттенуация противотуберкулезной вакцины путем удаления определенных ТА локусов, может предотвратить развитие осложнений, связанных с реактивацией бактерии.

* * *

До сих пор важность ТА систем не вполне осознана, но распространенность этих локусов в бактериальном мире свидетельствует об их значимости. На сегодняшний день накоплены экспериментальные подтверждения участия ТА систем в развитии таких важных физиологических состояний у бактерий, как персистенция, покой и программируемая клеточная смерть. В связи с этим, можно предполагать, что использование потенциала ТА систем приведет к появлению нового класса противобактериальных препаратов и вакцин.

Благодарим профессора А.С. Капрельянца за помощь в написании данного обзора.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ (№ 12-04-01604-а, № 11-04-00713-а, № 11-04-01440-а, № 12-04-01760-а) и ФЦП “Научные и научно-педагогические кадры инновационной России” (грант № 14.740.11.1056), Программы РАН “Молекулярная и клеточная биология”.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ogura T., Hiraga S. // Cell. 1983. V. 32. № 2. P. 351–360.
2. Прозоров А.А., Даниленко В.Н. // Микробиология. 2010. Т. 79. № 2. С. 147–159.
3. Pandey D.P., Gerdes K. // Nucleic Acids Res. 2005. V. 33. № 3. P. 966–976.
4. Gerdes K., Christensen S.K., Løbner-Olesen A. // Nat. Rev. Microbiol. 2005. V. 3. № 5. P. 371–382.
5. Yamaguchi Y., Park J.H., Inouye M. // Annu. Rev. Genet. 2011. № 45. P. 61–79.
6. Hayes F., Van Melderen L. // Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol. 2011. V. 46. № 5. P. 386–408.
7. Tian Q.B., Ohnishi M., Tabuchi A., Terawaki Y. // Biochem. Biophys. Res. Commun. 1996. V. 220. № 2. P. 280–284.
8. Jensen R.B., Gerdes K. // Mol. Microbiol. 1995. V. 17. № 2. P. 205–210.
9. Garcia-Pino A., Christensen-Dalsgaard M., Wyns L., Yarmolinsky M., Magnuson R.D., Gerdes K., Loris R. // J. Biol. Chem. 2008. V. 283. № 45. P. 30821–30827.
10. Tsuchimoto S., Nishimura Y., Ohtsubo E. // J. Bacteriol. 1992. V. 174. № 13. P. 4205–4211.

11. Christensen S.K., Maenhaut-Michel G., Mine N., Gottesman S., Gerdes K., Van Melderen L. // *Mol. Microbiol.* 2004. V. 51. № 6. P. 1705–1717.
12. Fozo E.M., Hemm M.R., Storz G. // *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 2008. V. 72. № 4. P. 579–589.
13. Blower T.R., Short F.L., Rao F., Mizuguchi K., Pei X.Y., Fineran P.C., Luisi B.F., Salmond G.P. // *Nucleic Acids Res.* 2012. V. 40. № 13. P. 6158–6173.
14. Makarova K.S., Wolf Y.I., Koonin E.V. // *Biol. Direct.* 2009. V. 4. № 19.
15. Simic M., De Jonge N., Loris R., Vesnaver G., Lah J. // *J. Biol. Chem.* 2009. V. 284. № 30. P. 20002–20010.
16. Yuan J., Sterckx Y., Mitchenall L.A., Maxwell A., Loris R., Waldor M.K. // *J. Biol. Chem.* 2010. V. 285. № 51. P. 40397–40398.
17. Pedersen K., Zavialov A.V., Pavlov M.Y., Elf J., Gerdes K., Ehrenberg M. // *Cell.* 2003. V. 112. № 1. P. 131–140.
18. Liu M., Zhang Y., Inouye M., Woychik N.A. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2008. V. 105. № 15. P. 5885–5890.
19. Hurley J.M., Woychik N.A. // *J. Biol. Chem.* 2009. V. 284. № 28. P. 18605–18613.
20. Schumacher M.A., Piro K.M., Xu W., Hansen S., Lewis K., Brennan R.G. // *Science.* 2009. V. 323. № 5912. P. 396–401.
21. Winther K.S., Gerdes K. // *Nucleic Acids Res.* 2012. V. 40. № 10. P. 4347–4357.
22. Zhang Y., Zhang J., Hoeflich K.P., Ikura M., Qing G., Inouye M. // *Mol. Cell.* 2003. V. 12. № 4. P. 913–923.
23. Aizenman E., Engelberg-Kulka H., Glaser G. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1996. V. 93. № 12. P. 6059–6063.
24. Metzger S., Dror I.B., Aizenman E., Schreiber G., Toone M., Friesen J.D., Cashel M., Glaser G. // *J. Biol. Chem.* 1988. V. 263. № 30. P. 15699–15704.
25. Kamada K., Hanaoka F., Burley S.K. // *Mol. Cell.* 2003. V. 11. № 4. P. 875–884.
26. Marianovsky I., Aizenman E., Engelberg-Kulka H., Glaser G. // *J. Biol. Chem.* 2001. V. 276. № 8. P. 5975–5984.
27. Zhang J., Zhang Y., Inouye M. // *J. Biol. Chem.* 2003. V. 278. № 34. P. 32300–32306.
28. Lah J., Simic M., Vesnaver G., Marianovsky I., Glaser G., Engelberg-Kulka H., Loris R. // *J. Biol. Chem.* 2005. V. 280. № 17. P. 17397–17407.
29. Zhang Y., Zhang J., Hara H., Kato I., Inouye M. // *J. Biol. Chem.* 2005. V. 280. № 5. P. 3143–3150.
30. Christensen S.K., Pedersen K., Hansen F.G., Gerdes K. // *J. Mol. Biol.* 2003. V. 332. № 4. P. 809–819.
31. Bech F.W., Jørgensen S.T., Diderichsen B., Karlström O.H. // *EMBO J.* 1985. V. 4. № 4. P. 1059–1066.
32. Diderichsen B., Fiil N.P., Lavallé R. // *J. Bacteriol.* 1977. V. 131. № 1. P. 30–33.
33. Gerdes K. // *J. Bacteriol.* 2000. V. 182. № 3. P. 561–572.
34. Galvani C., Terry J., Ishiguro E.E. // *J. Bacteriol.* 2001. V. 183. № 8. P. 2700–2703.
35. Overgaard M., Borch J., Gerdes K. // *J. Mol. Biol.* 2009. V. 394. № 2. P. 183–196.
36. Overgaard M., Borch J., Jørgensen M.G., Gerdes K. // *Mol. Microbiol.* 2008. V. 69. № 4. P. 841–857.
37. Neubauer C., Gao Y.G., Andersen K.R., Dunham C.M., Kelley A.C., Hentschel J., Gerdes K., Ramakrishnan V., Brodersen D.E. // *Cell.* 2009. V. 139. № 6. P. 1084–1095.
38. Hurley J.M., Cruz J.W., Ouyang M., Woychik N.A. // *J. Biol. Chem.* 2011. V. 286. № 17. P. 14770–14778.
39. Lehnher H., Maguin E., Jafri S., Yarmolinsky M.B. // *J. Mol. Biol.* 1993. V. 233. № 3. P. 414–428.
40. Magnuson R., Lehnher H., Mukhopadhyay G., Yarmolinsky M.B. // *J. Biol. Chem.* 1996. V. 271. № 31. P. 18705–18710.
41. Lehnher H., Yarmolinsky M.B. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1995. V. 92. № 8. P. 3274–3277.
42. Gazit E., Sauer R.T. // *J. Biol. Chem.* 1999. V. 274. № 24. P. 16813–16818.
43. Gazit E., Sauer R.T. // *J. Biol. Chem.* 1999. V. 274. № 5. P. 2652–2657.
44. Magnuson R., Yarmolinsky M.B. // *J. Bacteriol.* 1998. V. 180. № 23. P. 6342–6351.
45. Brodersen D.E., Clemons W.M.Jr., Carter A.P., Morgan-Warren R.J., Wimberly B.T., Ramakrishnan V. // *Cell.* 2000. V. 103. № 7. P. 1143–1154.
46. Liu M., Zhang Y., Inouye M., Woychik N.A. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2008. V. 105. № 15. P. 5885–5890.
47. Sevin E.W., Barloy-Hubler F. // *Genome Biol.* 2007. V. 8. № 8. P. 155.
48. Anantharaman V., Aravind L. // *Genome Biol.* 2003. V. 4. № 12. P. 81.
49. Pullinger G.D., Lax A.J. // *Mol. Microbiol.* 1992. V. 6. № 12. P. 1631–1643.
50. Miallau L., Faller M., Chiang J., Arbing M., Guo F., Cascio D., Eisenberg D. // *J. Biol. Chem.* 2009. V. 284. № 1. P. 276–283.
51. Robson J., McKenzie J.L., Cursons R., Cook G.M., Arcus V.L. // *J. Mol. Biol.* 2009. V. 390. № 3. P. 353–367.
52. Clissold P.M., Ponting C.P. // *Curr. Biol.* 2000. V. 10. № 24. P. 888–890.
53. Hopper S., Wilbur J.S., Vasquez B.L., Larson J., Clary S., Mehr I.J., Seifert H.S., So M. // *Infect. Immun.* 2000. V. 68. № 2. P. 896–905.
54. Mattison K., Wilbur J.S., So M., Brennan R.G. // *J. Biol. Chem.* 2006. V. 281. № 49. P. 37942–37951.
55. Arcus V.L., Rainey P.B., Turner S.J. // *Trends Microbiol.* 2005. V. 13. № 8. P. 360–365.
56. Ramage H.R., Connolly L.E., Cox J.S. // *PLoS Genet.* 2009. V. 5. № 12. P. 1767.
57. Arcus V.L., Bäckbro K., Roos A., Daniel E.L., Baker E.N. // *J. Biol. Chem.* 2004. V. 279. № 16. P. 16471–16478.
58. Winther K.S., Gerdes K. // *Mol. Microbiol.* 2009. V. 72. № 4. P. 918–930.
59. Daines D.A., Wu M.H., Yuan S.Y. // *J. Bacteriol.* 2007. V. 189. № 14. P. 5041–5048.
60. Scherrer R., Moyed H.S. // *J. Bacteriol.* 1988. V. 170. № 8. P. 3321–3326.
61. Black D.S., Irwin B., Moyed H.S. // *J. Bacteriol.* 1994. V. 176. № 13. P. 4081–4091.
62. Black D.S., Kelly A.J., Mardis M.J., Moyed H.S. // *J. Bacteriol.* 1991. V. 173. № 18. P. 5732–5739.

63. Schumacher M.A., Piro K.M., Xu W., Hansen S., Lewis K., Brennan R.G. // *Science*. 2009. V. 323. № 5912. P. 396–401.
64. Honda R., Lowe E.D., Dubinina E., Skamnaki V., Cook A., Brown N.R., Johnson L.N. // *EMBO J*. 2005. V. 24. № 3. P. 452–463.
65. Lippmann C., Lindschau C., Vijgenboom E., Schröder W., Bosch L., Erdmann V.A. // *J. Biol. Chem*. 1993. V. 268. № 1. P. 601–607.
66. Alexander C., Bilgin N., Lindschau C., Mesters J.R., Kraal B., Hilgenfeld R., Erdmann V.A., Lippmann C. // *J. Biol. Chem*. 1995. V. 270. № 24. P. 14541–14547.
67. Moyed H.S., Broderick S.H. // *J. Bacteriol*. 1986. V. 166. № 2. P. 399–403.
68. Moyed H.S., Bertrand K.P. // *J. Bacteriol*. 1983. V. 155. № 2. P. 768–775.
69. Oberer M., Zangger K., Gruber K., Keller W. // *Protein Sci*. 2007. V. 16. № 8. P. 1676–1688.
70. Oberer M., Zangger K., Prytulla S., Keller W. // *Biochem. J*. 2002. V. 361. № 1. P. 41–47.
71. Johnson E.P., Strom A.R., Helinski D.R. // *J. Bacteriol*. 1996. V. 178. № 5. P. 1420–1429.
72. Oberer M., Lindner H., Glatter O., Kratky C., Keller W. // *Biol. Chem*. 1999. V. 380. № 12. P. 1413–1420.
73. Ruiz-Echevarría M.J., Berzal-Herranz A., Gerdes K., Díaz-Orejas R. // *Mol. Microbiol*. 1991. V. 5. № 11. P. 2685–2693.
74. Santos-Sierra S., Pardo-Abarrio C., Giraldo R., Díaz-Orejas R. // *FEMS Microbiol. Lett*. 2002. V. 206. № 1. P. 115–119.
75. Dalton K.M., Crosson S. // *Biochemistry*. 2010. V. 49. № 10. P. 2205–2215.
76. Hurley J.M., Woychik N.A. // *J. Biol. Chem*. 2009. V. 284. № 28. P. 18605–18613.
77. Yamaguchi Y., Inouye M. // *Nat. Rev. Microbiol*. 2011. V. 9. № 11. P. 779–790.
78. Lewis K. // *Annu. Rev. Microbiol*. 2010. № 64. P. 357–372.
79. Wang X., Wood T.K. // *Appl. Environ. Microbiol*. 2011. V. 77. № 16. P. 5577–5583.
80. Guglielmini J., Van Melderen L. // *Mob. Genet. Elements*. 2011. V. 1. № 4. P. 283–290.
81. Engelberg-Kulka H., Amitai S., Kolodkin-Gal I., Hazan R. // *PLoS Genet*. 2006. V. 2. № 10. P. 135.
82. Bukowski M., Rojowska A., Wladyka B. // *Acta Biochim. Pol*. 2011. V. 58. № 1. P. 1–9.
83. Lerat E., Ochman H. // *Nucleic. Acids Res*. 2005. V. 33. № 10. P. 3125–3132.
84. Ochman H., Davalos L.M. // *Science*. 2006. V. 311. № 5768. P. 1730–1733.
85. Szekeres S., Dauti M., Wilde C., Mazel D., Rowe-Magnus D.A. // *Mol. Microbiol*. 2007. V. 63. № 6. P. 1588–1605.
86. Yamaichi Y., Fogel M.A., Waldor M.K. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2007. V. 104. № 2. P. 630–635.
87. Engelberg-Kulka H., Hazan R., Amitai S. // *J. Cell Sci*. 2005. V. 118. № 19. P. 4327–4332.
88. Kolodkin-Gal I., Sat B., Keshet A., Engelberg-Kulka H. // *PLoS Biol*. 2008. V. 6. № 12. P. 319.
89. Frampton R., Aggio R.B., Villas-Bôas S.G., Arcus V.L., Cook G.M. // *J. Biol. Chem*. 2012. V. 287. № 8. P. 5340–5356.
90. Amitai S., Yassin Y., Engelberg-Kulka H. // *J. Bacteriol*. 2004. V. 186. № 24. P. 8295–8300.
91. Pedersen K., Christensen S.K., Gerdes K. // *Mol. Microbiol*. 2002. V. 45. № 2. P. 501–510.
92. Keren I., Kaldalu N., Spoering A., Wang Y., Lewis K. // *FEMS Microbiol. Lett*. 2004. V. 230. № 1. P. 13–18.
93. Maisonneuve E., Shakespeare L.J., Jørgensen M.G., Gerdes K. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2011. V. 108. № 32. P. 13206–13211.
94. Анучин А.М., Гончаренко А.В., Галон И.В., Демидёнок О.И., Кудыкина Ю.К., Мойсенович М.М., Мулюкин А.Л., Капрельянци А.С. // *Прикл. биохимия и микробиология*. 2010. Т. 46. № 3. С. 308–314.
95. Gerdes K., Maisonneuve E. // *Annu. Rev. Microbiol*. 2012. V. 66. P. 103–123.
96. Moritz E.M., Hergenrother P.J. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2007. V. 104. № 1. P. 311–316.
97. Rosvoll T.C., Pedersen T., Sletvold H., Johnsen P.J., Sollid J.E., Simonsen G.S., Jensen L.B., Nielsen K.M., Sundsfjord A. // *FEMS Immunol. Med. Microbiol*. 2010. V. 58. № 2. P. 254–268.
98. Kolodkin-Gal I., Hazan R., Gaathon A., Carmeli S., Engelberg-Kulka H. // *Science*. 2007. V. 318. № 5850. P. 652–655.

Bacterial Toxin–Antitoxin Systems and Perspectives for Their Application in Medicine: A Review

O. I. Demidenok and A. V. Goncharenko

Bakh Institute of Biochemistry, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

e-mail: demidenoksana@gmail.com

Received December 19, 2012

Abstract—The structure of various toxin–antitoxin (TA) families and the principles of their action are reviewed. TA loci are widely distributed in the genomes of eubacteria and archaea. Most TA systems are two-component and function in a similar way: a stable toxin alters vitally important cell functions and can be inactivated by a labile antitoxin.