

Інтегрони як ключовий інструмент еволюції бактерій

Н. О. Козировська

Інститут молекулярної біології і генетики НАН України
Вул. Академіка Заболотного, 150, Київ, 03143, Україна

Відносно проста за структурою система інтегрон/генетична касета є частиною великого арсеналу більш складних мобільних генетичних елементів бактерій, які надають їм можливість швидко пристосовуватися та виживати у нових умовах довкілля. Властивість інтегронів комбінувати генетичні ознаки визначає їхню роль не лише в пристосуванні бактерій до зовнішніх умов, а відповідно їй у формуванні метагеному прокариотів, що є джерелом для поширення генів та еволюції. В огляді розглядаються питання розмаїття інтегронів та асоційованих генетичних касет, а також походження інтегронів та їхнє розповсюдження серед бактерій.

Вступ. Численні факти, які надає порівняльна геноміка, дають підставу вважати горизонтальне перенесення генів між бактеріями новою парадигмою еволюції бактерій, що не описується теорією еволюції Дарвіна [1—3]. Хоча мутації і викликають зміни у геномі, які можуть бути корисними організмові у виживанні або кращому пристосуванні до певних умов, вони не є єдиним фактором еволюції бактерій. Горизонтальне перенесення генетичного матеріалу забезпечує більш значні зміни, які дозволяють організму виконувати нові функції [4, 5].

В останні роки отримано багато свідчень ролі мобільних генетичних елементів (МГЕ) у переміщенні генів між бактеріями та пластичності геномів бактерій завдяки таким транзиціям. Генетичні структури, такі як бактеріофаги, плазміди, транспозони, констени, геномні острови, забезпечують рухливість так званого метагеному, який містить віртуальний набір генів та некодуючих послідовностей ДНК, локалізованих у МГЕ і призначених виконувати певну роль у пристосуванні бактерій до нових умов існування (нова ніша, новий господар тощо). Інтегрони являють собою генетичні елементи, які обслуговують МГЕ шляхом захоплення певних генів та направлення їхньої експресії на потреби бактерійної клітини, або, навпаки, видалення генів з певного набору [6—8]. Обидва про-

тильно спрямовані процеси переміщення генів спричинюють пристосування організмів до змінних умов існування чи надають селективні переваги бактеріям у конкретній екологічній ніші [9—14].

Побудова інтегронів. Найпростіше побудований інтегрон має такі основні компоненти, які забезпечують основну функцію інтеграції/видалення генів та спрямування їхньої експресії: 1) ген *intI*, що кодує сайт-специфічну рекомбіназу — інтегразу (*IntI*); 2) *attI* ділянку для інсерції генетичної касети (ГК); 3) промотор P_c , під який забудовується безпромоторна відкрита рамка зчитування (BP_3) ГК [15, 16] (рис. 1). Такий модуль локалізований на 5'-кінці інтегрону. Окрім основних компонентів, інтегрон, як уже зазначалося, має вбудовану ГК — найпростіший з генетичних елементів. Відомі на сьогодні ГК складаються з однієї або багатьох BP_3 та асоційованих з ними рекомбінаційних ділянок, які мають центральну послідовність розміром 59 п. н., та зветься 59 п. н. або *attC* елементами [17—20]. Кільцева касета вбудовується в *attI* ділянку інтегрона або в рекомбінаційний *attC* сайт захопленої раніше касети через сайт-специфічну рекомбінацію, опосередковану інтегразою *IntI* (рис. 2). Такі численні події можуть призвести до багатьох забудов і утворення структури, яка може вбирати в себе велику кількість касет (рис. 1, б). В інтегронах кожен ген межує з *attC* елементом і, таким чином, у будь-

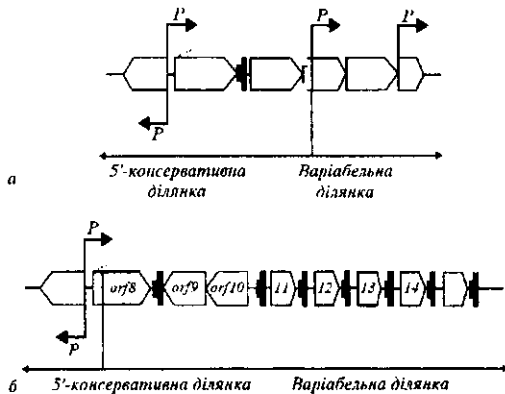


Рис. 1. Загальне уявлення про структуру мультирезистентних інтегронів. Інтегрон складається з консервативних кінцевих ділянок, які оточують варіабельну ділянку, утворену генетичними касетами: а — загальна структура інтегронів класу 1; б — структура суперінтегрона; *int* — ген інтегрази; *att*—рекомбінаційна ділянка; *PE* — промотор, *orf* — відкрита рамка зчитування

який час може бути видаленим з його контексту. Отже, ГК формують варіабельну частину інтегрона, стабільність якої залежить від умов існування організму.

ГК завжди інтегруються в однакових орієнтаціях та їхні гени транскрибуються з промотору *P_c*, локалізованого всередині *intI* гена до промотору [15, 16]. Інколи ВРЗ генетичних касет (*qacE*, *cmIA*, *ereA*) мають власні промотори, але це вважається винятком [20, 21]. Промоторна ділянка інтегрону має один або два промотори різної сили, наявність яких в інтегронах умовно позначається *P_c* [22]. Сильними промоторами вважаються такі, що сильніші за *tac* промотор *Escherichia coli*, а слабкими — слабші за нього [20]. Сім з 10 промоторів *P1* є слабкими, у промоторів *P2* лише перші 17 нуклеотидів активні і зустрічаються у всіх класів інтегронів, окрім 1 та 5 [23].

Побудова *attI1* сайту у різних інтегронів є різною, за винятком однієї спільної ознаки: ці ділянки мають таку ж консенсусну послідовність ДНК, як і *attC* сайт ГК GTTRRRY (R — пурин, Y — піримідин) (рис. 3). Для *attI1* показано, що кросовер у процесі рекомбінації відбувається між G та першим T в основній ділянці 1 (див. рис. 3) за участі інтегрази таким же чином, як у *attC* сайті [18, 26]. Опосередкована інтегразою рекомбінація полягає в обміні однією ниткою ДНК, і продукт, який має структуру Голідея, скоріш за все, розділяється резольвазою.

Архітектура *attI1* у різних інтегронів є подібною, тобто вони розміщуються на 5'-кінці *intI* гена і транскрибуються у протилежному до нього

напрямку. Як і *attC* сайт, *attI1* організовано так, що він має дві пари рекомбінаційних локусів [27], проте на відміну від *attC* елементів вони відрізняються тим, що не утворюють інвертованих доменів для зв'язування з інтегразою, розділених невеликими спейсерами.

Інтегрази, закодовані в інтегронах, є членами великої і різномірної родини сайт-специфічних тирозинових рекомбіназ. Характерною особливістю останніх є наявність двох консервативних ділянок, всередині яких локалізовано чотири тирозинових залишки [28]. До цієї родини належать такі відомі рекомбінази, як XerC/XerD, Cre, Flp та інтеграза бактеріофага λ [29]. Експериментально доведено, що тирозин у положенні 20 на N-кінці ферменту безпосередньо бере участь у розриванні ДНК [30]. Всередині родини інтегрази IntI формують групу білків з невисокою гомологією (41—57 %), однак усі вони на відміну від інших представників родини, мають додатковий домен і відповідно 16 амінокислотних залишків між консервативними ділянками II та III [31]. Це дає, вірогідно, можливість інтеграмам інтегронів каталізувати декілька типів реакцій: між *attI1* та *attC*, двома *attC* сайтами, а також між *attC* сайтом та неспецифічним сайтом з дегенеративною консенсусною послідовністю [18]. У всіх випадках інтеграза опосередковує як інтеграцію ГК, так і їхнє видалення.

Незважаючи на незначну подібність, інтегрази різних класів розпізнають ті ж самі *attC* сайти, що дозволяє переміщатися ГК з одного класу інтегрону

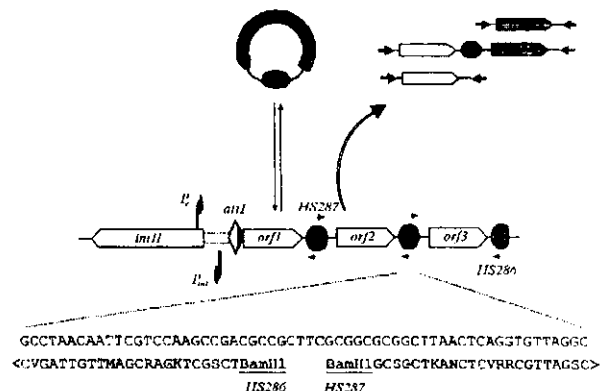
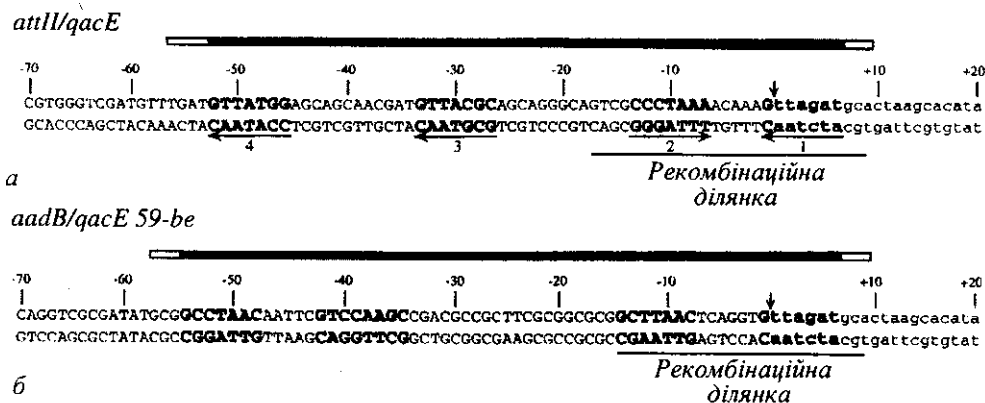


Рис. 2. Схема захоплення/видалення генетичної касети (ГК) із системи інтегрон/ГК. ГК інтегрується з *attI1* ділянкою інтегрона або рекомбінаційним сайтом ГК *attC*, асоційованим з інтегронном, які мають консервативні послідовності, позначені на рисунку стрілками і які використовують для виділення генів методом ПЛР за участі дегенеративних праймерів HS286 та HS287 до консервативних послідовностей двох *attC* елементів [24, 25]



до іншого. Інтегрази деяких бактерій, зокрема *Pseudomonas stutzeri* [32], виділено і показано, що вони є функціонально активними. Інші інтегрази виведено шляхом аналізу відомих послідовностей геномів бактерій *Vibrio cholerae*, *Shewanella oneidensis*, *Nitrosomonas europaea*, *Geobacter sulfurreducens*, *Treponema denticola* та ін. [25, 33—35].

З обох боків інтегрони обмежуються консервативними ділянками, які визначають їхні особливості та приналежність до певного класу.

Класи інтегронів. Визначення класу інтегрону відбувається за визначенням нуклеотидних послідовностей гена інтегрази та некодуючих послідовностей між *intI* та *attI*. На даний момент відомо більше дев'яти класів інтегронів бактерій, ізольованих із різноманітних середовищ — від штучних (лікувальні заклади) до природних (грунт, вода) [18, 25, 35—38]. Деякі інтегрони виведено з відомих геномів бактерій, як зазначалося, завдяки комп'ютерним програмам. Чотири класи інтегронів, у складі яких описано 75 генів, забезпечують бактеріям стійкість до антибіотиків та інших лікарських препаратів. Найпоширенішими серед стійких до ліків бактерій є інтегрони 1—3 класів. Характерною їхньою ознакою є те, що на консервативному 3'-кінці вони вміщують повний набір генів, які відповідають за переміщення генетичного матеріалу, тобто їм притаманні певні ознаки транспозонів. Деякі інтегрони класу 1, наприклад, *Tn402*, є активними транспозонами [36] і мають гени для транспозиції (*tniA*, *-B* і *-Q*), а також ген резольвази *tniR*, яка необхідна для роз'єднання коінтегратів, утворених при транспозиції [37]. Проте такі інтегрони, як *Tn402*, є скоріше винятком, інші ж мають делеції, які відбуваються в результаті влучення інсерційних елементів у 3'-сегмент, або лише залишки генів транспозиційної системи [38]. Незважаючи на недосконалість системи власного переносу, інтегрони класу 1 здатні за певних умов мігрувати, як, наприклад, *Tn1405*, здатний до пе-

реміщення у межах плазмиди *R388*, вірогідно, внаслідок гомологічної рекомбінації [27].

Окрім деяких елементів транспозонів, на 3'-сегменті інтегронів класу 1 у більшості випадків локалізуються делеційний варіант *qacE* гена, *qacEΔ1*, який обумовлює стійкість бактерій до антисептиків та дезінфікантів, *sulI* ген, що кодує стійкість до сульфонамідів, а також *VP35* і *6* з невідомою функцією [38—41]. На 5'-консервативному кінці розташований характерний модуль *intI/attI/P_c* [42, 43] (рис. 1, а). Із зовнішнього 5'-кінця інтегрон обмежується локусом розміром 25 п. н., *iRi*, що являє собою інвертований повтор послідовності *Irt*, суміжної з 3'-кінцем ділянки інтегрона [27, 36, 38, 42].

Представники інтегронів класів 1 та 2 незначно відрізняються одне від одного, проте характерною ознакою інтегронів класу 2 є те, що вони, окрім генів для транспозиції на 3'-кінці інтегрону, мають ГК з геном дигідрофолатредуктази *dfrA1*, який кодує стійкість до триметаприму [43—45]. Дещо відмінну будову має нещодавно описаний інтегрон класу 2, який містить *IS1* елемент, інтегрований у ділянку, що межує з *intI2* геном [21]. Інтегрони класу 3 мають характерні касети, які кодують стійкість до бета-лактамних антибіотиків *bla_{IMP}* та *bla_{GES-1}*. Вони охарактеризовані у *Serratia marcescens* [46] та *Klebsiella pneumoniae* [47]. Як і в інтегроні класу 1, у консервативному 3'-сегменті знайдено частину транспозона, подібного до *Tn402*, ген резольвази *tniR*. На 5'-консервативному кінці розташований модуль *intIII/attIII/P_c*, але в протилежній орієнтації до аналогічного модуля класу 1 [48]. У нашій дивній природі зустрічаються гібридні інтегрони, які мають ознаки двох різних класів інтегронів. Так, у бактерії *Acinetobacter baumannii*, відомого патогену людини, описано інтегрон, що має ген інтегрази класу 2 та консервативний 3'-сегмент, характерний для інтегронів класу 1 [49].

Окрему гілку утворюють інтегрони класу 4, що також мають касети резистентності до антибактерійних препаратів. Описано їх у бактерій, які належать до *V. cholerae* серогруп O139 та O1 азіяського походження [35, 50]. Особливістю цих інтегронів є те, що вони являють собою інсерцію у констину (кон'югативний транспозон, здатний до інсерції у хромосому) або SXT елементі, локалізованому, в свою чергу, на 5'-кінці гена *prfC*, який кодує так званий релізінг-фактор 3. Власна інтеграза констину, що належить до λ -рекомбіназ, опосередковує інтеграцію елемента або його ексцизію, яка закінчується утворенням циркулярної епісоми, здатної до самопереносу в іншу клітину бактерії. Таким чином, констин утворено з модуля, який забезпечує власну інтеграцію та переміщення, та з набору генів, необхідних для кращого пристосування у певній екологічній ніші.

Прогнозована інтеграза знайденого у констині інтегроні має 53 % ідентичності до інтеграз класу 2. В інтегроні локалізовано *dfrA1* касету, описану в інтегронах класів 1 та 2. Як і в інших відомих мультирезистентних інтегронах (MPI), в інтегронах SXT елемента різних серогруп *V. cholerae* ГК мають різні за довжиною та композицією основ *attC* елементи. Цікаво, що рекомбінаційний *attC* елемент касети 2 цього інтегроні практично ідентичний *attC* елементу суперінтегроні бактерії *S. putrifaciens*, хоча гени касет обох організмів відрізняються. На думку дослідників, *dfrA1*-подібний інтегрон став частиною констину за рахунок рекомбінації *attC* касети 5 та неканонічної послідовності SXT.

Отже, інтегрони 1—4 класів — це системи захоплення/видалення детермінант стійкості до антибіотиків та інших лікарських препаратів. У бактерій вони локалізовані на мобільних генетичних елементах і забезпечують розповсюдження таких детермінант у довкіллі та пристосування патогенів до терапії антибактерійними препаратами.

Думка про те, що функція інтегронів обмежена поширенням ГК, які кодують стійкість до антибактерійних препаратів, існувала допоки із зразків екологічно чистих ґрунтів не було виділено декілька нових інтегронів класів 6—9 [24, 25, 32, 52] і доведено їхню функціональну активність [32, 33, 53].

Нові дані значно розширили уявлення про бактерійний метагеном. Завдяки нескладній методології, яка має бути зрозумілою з рис. 2, автори дослідження спромоглися виділити більше сотні ГК та ідентифікувати деякі гени з відомими функціями, а саме — фосфотрансферази, ДНК-глікозилази, метилтрансферази тощо та десятки генів з

невідомими функціями, які локалізувалися у суперінтегронах.

Суперінтегрони (CI) являють собою інтегрони хромосомної локалізації, які складаються із сотень ГК. Функції, які забезпечують ГК у пристосуванні бактерій, не обмежуються стійкістю до ліків. Зважаючи на їхню величезну кількість та розмаїття, можна з впевненістю стверджувати, що бактерії мають чималий потенціал у гармонізації з довкіллям [54]. Першим описано CI у геномі бактерії *V. cholerae* [51, 55] та визначено його локалізацію на меншій з двох хромосом [56]. Цей CI займає сегмент хромосоми розміром 126 тис. п. н. і складається з 179 касет. Подібні гігантські CI пізніше ідентифіковано методом ПЛР і секвенуванням ампліконів, а також віднайдено у генетичних базах даних у багатьох інших представників роду *Vibrio* [57—59], β - і γ -протеобактерій, таких як *Shewanella*, *Pseudomonas*, *Xanthomonas* [32—34]. Окрім великих розмірів та розмаїття ГК, зібраних у CI, характерними ознаками їхньої родини є те, що *attC* елементи ГК (у *Vibrio* вони позначаються, як VXR, наприклад, VCR — *V. cholerae* repetitive sequences) є гомологічними за довжиною та послідовностями всередині одного виду, на відміну від MPI. З іншого боку, *attC* елементи MPI, які мають низьку гомологію з VCR, більше сприймаються як такі, що потрапили у чужий геном шляхом горизонтального переносу [59]. Як з'ясувалося, інтеграза класу 1 здатна взаємодіяти з VCR, тобто останні є субстратами для інтеграз MPI, а це може означати, що *attC* елементи мультирезистентних інтегронів класів 1—3 походять з окремих CI [58]. Порівняння ГК CI вібріонів різних видів показує, що ГК всередині одного виду також є ідентичними, проте трапляється й таке, коли різні види мають однакові касети, які, можливо, були незалежно зібрані у цілісну структуру *in vivo* або вийшли з одного попередника і шляхом горизонтального переміщення дісталися бактерій-господарів. На користь припущення про утворення ГК *in vivo* свідчать унікальні ГК, знайдені у представників багатьох видів бактерій. Якщо це дійсно відбувається в клітинах бактерій, то процес «збирання» ГК адекватніше описує швидке пристосування бактерій до певних умов довкілля, ніж горизонтальне перенесення генів.

При переході від порівняння ГК до порівняння загальної організації CI всередині одного виду можна також помітити деякі відмінності у їхній структурі, яка є наслідком мікроеволюції CI [51]. Переважна більшість виділених ГК CI має кодуєчі білок послідовності ДНК з поки що невідомими функціями, а також некодуєчі послідовності неві-

домого призначення [53]. Те саме справедливе і для ГК СІ, ідентифікованих у визначених нині геномах бактерій. Серед генів касет, функції яких відомі, вирізняють гени, які кодують ліпази, ендонуклеази рестрикції, транспортні білки, токсини, поверхневі антигени [35, 53, 59]. Функціональну активність деяких білків, що кодуються генами ГК, доведено у дослідях з комплементативі мутацій у *E. coli* [59], проте транскриптомний аналіз СІ має показати, як функціонують гени ГК, як вони контролюються і яким чином узгоджується їхня активація транскрипції та активація генів, локалізованих за межами СІ. Можливо, СІ забезпечують власний генетичний контроль транскрипції, як, наприклад, геномні острови [3]. Навіть на основі аналізу нечисельної на цей час бібліотеки ГК СІ можна зробити висновок, що білки, які кодуються ГК, практично не представлені ферментами основних біохімічних схем, отже, вони не є життєво необхідними. Проте ці гени можуть кодувати додаткові функції, які надаватимуть бактеріям переваги у пристосуванні до нових умов довкілля.

Послідовності ДНК бактерій, що не кодують білки, а саме — ділянки для взаємодії з регуляторними білками та малими РНК, відіграють важливу роль у геномі бактерій. Аналіз послідовностей ДНК, що утворюють низку касет в окремих інтегронах, свідчить про відсутність у деяких ВРЗ стартових та стоп-кодонів. Такі утворення мають значну подібність та формують окремі родини послідовностей з гомологією 61—94 %. Вони мають дуже консервативні ділянки всередині касети і утворюють недосконалі інвертовані повтори. Дослідники цих касет припускають, що структура послідовностей у цьому випадку є більш значущою, ніж їхній кодуючий потенціал. Отже, автори роблять інтригуючий висновок про те, що родини некодуючих послідовностей ДНК касет виконують якусь особливу біологічну роль [53].

Привертає увагу те, що суперінтегрони мають сотні ГК з рекомбінаційними сайтами, псевдогени, інсерційні елементи і, таким чином, у цих структурах створюється суттєва можливість для виникнення рекомбінаційних подій, які б могли спричинити зміни у СІ. Незважаючи на постійні варіації, структура СІ лишається більш-менш стабільною. Виникає питання, як СІ зберігають свою цілісність протягом тривалого часу? Майзел та співавт. передбачають, що досить довгу низку генетичних касет у СІ стабілізує система PSK/CCD [59]. У цьому місці огляду трохи відступимо від теми і розглянемо, що являє собою система PSK/CCD.

Postsegregational killing (PSK) — постсегрега-

ційна знижувальна система — це пара генів, організованих в один оперон, експресія яких необхідна клітині бактерій для виживання. Один з генів кодує синтез стабільного токсину, інший — специфічного до нього нестабільного антидоту. Оперон локалізується на плазміді або перебуває у складі бактеріофага. Після вилучення модуля з цими генами (а таке відбувається при втраті плазмід чи лізогенії бактерій) клітина гине через те, що токсин «переживає» нестабільний антитоксин [60]. Таку систему називають ще системою стабілізації плазмід і фагів. Хромосомним еквівалентом PSK є CCD (Control of Cell Death) — система, яка керує виживанням клітин. В СІ *V. fisheri* розшифровано послідовність модуля генів *ccdAB*, які кодують відповідно токсин гірази та його антидот [59]. Загибель клітини запрограмовано через «вимикання» гірази в разі вилучення ГК, яка містить модуль *ccdAB*. Подібний випадок, коли клітини гинуть при звільненні від аналога токсину, зареєстровано у *V. metschnikovii* (*phd-doc* система). Окрім зазначених систем, у *V. cholerae* знайдено *higAB* та *parDE* ортологи, які також мають будову ГК і викликають загибель клітинної популяції після втрати відповідних ГК [59]. PSK/CCD системи, схоже, відіграють кілька ролей, одна з них вбачається у контролі загибелі клітин бактерій. У *E. coli* описано PSK локус (*chpB*), здатний нейтралізувати токсин, який кодується іншою системою (*parD*) [61]. Тобто спостерігається взаємодія між системами, яка не лише впливає на виживання конкретної популяції бактерій у певних умовах, а й причетна до еволюції даного виду бактерії через контроль процесу придбання/вилучення генетичного матеріалу, наприклад, плазмід, що несе в собі тільки токсин (без гена для вироблення антидоту).

Роль PSK/CCD системи може відігравати також система рестрикції—модифікації (CPM) [62]. Після втрати CPM клітина гине, оскільки період життя рестриктази довший, ніж метилази. Отже, Майзел та співавт. пропонують модель регуляції стабільності СІ за участі PSK/CCD систем. Передбачається, що вони попереджають численні вірогідні перебудови у велетенських СІ, що могли б призвести до вилучення касет і, таким чином, до втрати PSK та загибелі клітин популяції. Таку ж роль стабілізатора касет могла б виконувати, на думку авторів, CPM, описана в СІ бактерій родів *Xanthomonas* [59] та *Pseudomonas* [63].

Походження інтегронів. Дивергенція генів, що кодують інтегрази, відбулася ще задовго до ери антибіотикотерапії і вони є такими ж давніми, як і деякі рибосомні гени [58, 59]. Цей висновок зроблено після порівняльного генетичного аналізу по-

слідовностей генів інтеграз та генів *rrn* (16S рРНК) і *rplT* (рибосомний білок L20) інтегронів бактерій різних видів роду *Vibrio* і представників декількох інших родів. Консервативні гени *rrn* та *rplT* вибрано як генетичні маркери не випадково, а як такі, що кодують інформаційні білки, життєво необхідні для бактерій і тому найзахищеніші від змін. Порівняння дендрограм трьох генів різних бактерій свідчить про формування однакових кладів генами інтеграз та рибосомними генами і показує, що еволюція цих генів відбувалася паралельно з консервативними генами. Таким чином, їхній вік налічує мільйони років, як і вік бактерій. Тобто, СІ є стабільними утвореннями, які самостійно не мігрують між бактеріями. Додатковим аргументом на користь цього є дані про те, що на межі генів інтеграз не знайдено консервативних послідовностей або структур, які свідчили б про їхню мобільність. Ретельніший генетичний аналіз, тобто визначення консервативності порядку розташування сусідніх до *intI* генів, розповсюдження ортологів між видами одного роду бактерій, пошук кластерів гомологічних генів на ділянках, суміжних з *intI* геном, підтвердив попередні висновки [59].

Розповсюдження інтегронів. Як зазначалося вище, інтегрони, за рідкісним винятком, не можуть самостійно мігрувати між бактеріями. Проте перебуваючи у складі МГЕ, вони знаходять все більше нових хазяїв [18, 38, 64]. Деякі з них є частиною складних транспозонів і локалізуються на трансмісивних плазмідах, що дає їм змогу швидко розповсюджувати ГК та адаптувати бактерійні популяції до умов довкілля [65]. Інші інтегрони є елементами геномних островів, які утворилися через фіксацію гібридних плазмід (фазмід) у хромосомі [66].

У мультирезистентних бактерій на геномних островах знайдено по декілька різних інтегронів. Так, у *Salmonella enterica* сероварів *Typhimurium* та *Agona*, стійких до п'яти антибіотиків, виявлено геномний острів з чотирма інтегронами [67]. Нещодавно описано штами *V. cholerae* серотипу O, які несуть по два різних інтегрони — на плазміді та в хромосомі [68], а також мультирезистентний штам *S. marcescens* SCH88050909, який несе в одній клітині інтегрони трьох класів [69].

Інтегрони 1—3 класів виявлено у багатьох грамнегативних бактерій, стійких до антибіотиків, які набули таку ознаку у лікарняних палатах і вийшли назовні [70, 71], або в неклінічне оточення [57]. Якщо порівняти їхнє поширення, то перевага буде на боці інтегронів класів 1 і 2 [72, 73]. Представники класу 3 виділяються спорадично [74], а найменш поширеними є інтегрони класів 4

і 5 [35, 75]. Інтегрони 1—3 класів виділяються переважно у ентеробактерій [73, 76—79] та псевдомонад [80—82], 99 % з них є клінічними ізолятами. Проте такий розклад бактерій, що мають у геномі інтегрони, не відображає дійсної ситуації, яка існує у природі та в штучному середовищі, оскільки процес опису феноменології інтегронів ще не завершено і, зважаючи на сучасні пріоритети, наголос в «інвентаризації» інтегронів ще довгий час стоятиме на МРІ.

Молекулярна епідеміологія дозволяє прослідкувати, як змінюється спектр резистентності бактерій до антибактерійних препаратів, що кодується ГК інтегронів. Якщо у 80-ті роки у хвороботворних бактерій домінували інтегрони з однею ГК, що несла стійкість до одного типу лікарських препаратів, переважно аміноглікозидів, то з 90-х поширюються МРІ, де переважають *dfr* гени. Така інформація про розповсюдження та якісне змінення ГК інтегронів класу 1 знаходиться у повній відповідності із зміненням спектра антибіотиків, які використовували для лікування хворих [73]. Протягом двох останніх десятиліть скоротилася кількість касет в ізолятах бактерій від уринарних хворих, які кодують стійкість до аміноглікозидних препаратів, і значно підвищилася присутність ГК з *dfrA1* генами, відповідальними за стійкість до триметаприму [81]. У повідомленні з ФРН було прослідковано зміни в структурі інтегронів у п'яти видів ентеробактерій, виділених з крові хворих, за семирічний період. Кожного року спостерігалася підвищення відсотка бактерій з інтегронами: від 4,7 у 1993 до 17,4 у 1999 р. Відповідно за 7 років на 60 % зросла вірогідність виділення інтегронів з сильним промотором P1 [83]. Цікаво, що в 1993 році дослідники спостерігали бактерії, які несли «порожні» інтегрони, тобто без ГК, у той час як у подальшому виявлялися лише інтегрони з касетами стійкості до антимікробних речовин.

Прикладом сучасної еволюції резистентних бактерій є виявлення інтегронів класу 4 *V. cholerae* у складі STX елемента та утворення мультирезистентних вібріонів і їхнє поширення в Азії, наслідком чого були епідемії холери в Індії та інших країнах регіону [35].

МРІ описують те тільки у бактерій, виділених у хворих людей, в лікарняних палатах та на клінічних атрибутах, але й у бактерій, господарями яких є тварини (ссавці, птахи, риби). У США проведено масштабне дослідження розповсюдження інтегронів у ентеробактерій свійських та диких тварин, у якому 555 представників родини *Enterobacteriaceae* було проаналізовано на наявність у геномі інтегронів 1—4 класів [75]. Інтегрони ви-

ділено як у бактерій тварин, яких лікували, так і у представників нормальної мікрофлори здорових особин. Приблизно 46 % ветеринарних ізолятів бактерій родини *Enterobacteriaceae* в США мають інтегрони класу 1, як і бактерії, виділені у хворих людей; інтегрони класу 2 виділяються у *E. coli* та *Salmonella*. Інтегрони класу 3 не виділено у представників згаданої родини методом полімеразної ланцюгової реакції, проте гібридизація ДНК-ДНК дала позитивний результат для *intI3*. Жоден з ізолятів не мав ознак інтегронів класу 4. Чимало представників нормальної мікрофлори містили по два класи інтегронів, які надавали господарям стійкості до п'яти антибіотиків. Інтегрони було знайдено не лише у домашніх тварин, але й у диких, що само по собі дуже цікаве і порушує багато питань.

Ідея виділення ГК з природних зразків підштовхнула науковців до пошуку інтегронів у бактеріях проблемних природних середовищ. Чим воно складніше у плані забруднення, тим дивовижніші композиції генетичних елементів утворюються у бактерій таких екологічних ніш для пристосування та виживання мікроорганізмів. Як приклад наведемо структуру плазмиди *pB10* групи сумісності *IncP-1beta*, що опосередковує стійкість бактерій до трьох антибіотиків, сульфонамідів та ртуті. У складі цієї чималої структури (64508 п. н.) описано типовий інтегрон класу 1 з двома ГК, трьома транспозонами родини *Tn3* та інсерційним елементом *IS1071*. Такий арсенал МГЕ надійно допомагає бактеріям пристосуватися до виживання у стокових водах заводів ФРН [84].

Висновки. Інтегрони як рекомбінаційна система важливі для еволюції бактерій тим, що забезпечують простий механізм придбання нових генів, які надають можливість новим господарям виконувати незвичні функції. Разом з тим завдяки інтегронам мікроорганізми отримують переваги в новому або зміненому довкіллі. Незважаючи на дивергенцію генів, інтегрази різних класів упізнають різні рекомбінаційні ділянки, асоційовані з ГК, і це забезпечує клітинам оновлення геному через вихоплення потрібних ГК.

Імпортування і підпорядкування ГК — найзахоплюючі з відомих нині аспектів функціонування інтегронів, надають переваги бактеріям у виживанні, а інтегронам — слави «великих комбінаторів». Гени, які переміщуються серед прокариотів разом з некодуючими послідовностями ДНК, формують метагеном популяції або пластичний додаток до основного геному. У деяких бактерій він складає до 1/5 геному [3]. Основний набір генів змінюється рідко і відображає історію еволюції бактерій, у той час як додатковий — зазнає ва-

ріацій відповідно до змін чи то у природному, чи у штучному середовищі. Такий запасний генетичний матеріал мігрує у популяції бактерій всередині виду і інколи — між видами. Останнє має бути обмеженим і контролюватися в популяції, щоб у складних змішаних співтовариствах не поступитися «вигіднішими» генетичними касетами конкуруючим популяціям. Формування видоспецифічних родин інтегрон/ГК, можливо, є ще одним із завдань інтегронів (Г. Стокс, персональне повідомлення).

N. O. Kozyrovska

Integrans as a key tool in bacteria evolution

Summary

The integron/gene cassette system is a relatively simple structure, and it is linked to the mobile genetic elements pool that serves bacteria for their accommodation and survival in the changeable environment. The properties of integrons and gene cassettes indicate that these elements play a role in both adaptation to permanently changing environmental conditions and formation of the prokaryotic metagenome that is a resource for gene dissemination and evolution of bacteria. The diversity of integrons and cassette associated genes, an ancestry for integrons, and their spread are reviewed.

H. A. Kozыrovskaya

Интегроны как ключевой инструмент эволюции бактерий

Резюме

Относительно простая по структуре система интегрон/генетическая касета является частью большого арсенала более сложных мобильных генетических элементов бактерий, дающих возможность им быстро приспосабливаться и выживать в новых условиях окружающей среды. Способность интегронных комбинировать генетические признаки определяет их роль не только в приспособляемости бактерий к внешним условиям, но соответственно и в формировании метагенома прокариотов, что служит источником распространения генов и эволюции. В обзоре рассматриваются вопросы разнообразия интегронных и ассоциированных генетических кассет, а также происхождение интегронных и их распространение среди бактерий.

ПЕРЕЛІК ЛІТЕРАТУРИ

1. Ohman H., Moran N. Genes lost and genes found: evolution of bacterial pathogenesis and symbiosis // *Science*.—2000.—292.—P. 1096—1098.
2. Calcutt M. J., Lewis M. S., Kim S. Wise molecular genetic analysis of ICEF, an integrative conjugal element that is present as a repetitive sequence in the chromosome of *Mycoplasma fermentans* PG18 // *J. Bacteriol.*—2002.—184, N 24.—P. 6929—6941.
3. Nunes L. R., Rosato Y. B., Muto N. H., Yanai G. M. Microarray analyses of *Xylella fascidiosa* provide evidence of coordinated transcription control of lateral transferred elements // *Genome Res.*—2003.—13.—P. 570—578.
4. Кордюм В. А. Эволюция и биосфера.—Киев: Наук. думка, 1982.—260 с.
5. Lopez-Garcia P., Brochier C., Moreire D., Rodriguez-Valera F. Comparative analysis of a genome fragment of an uncul-

- tivated *Mesopelagic crenarcheote* reveals multiple horizontal gene transfers // *Environ. Microbiol.*—2004.—6.—P. 19—34.
6. Collis C. M., Hall R. M. Gene cassettes from the insert region of integrons are excised as covalently closed circles // *Mol. Microbiol.*—1992.—6.—P. 2875—2885.
 7. Collis C. M., Hall R. M. Site-specific deletion and rearrangement of integron insert genes catalyzed by the integron DNA integrase // *J. Bacteriol.*—1992.—174.—P. 1574—1585.
 8. Collis C. M., Grammaticopoulos G., Briton J., Stokes H. W., Hall R. M. Site-specific insertion of gene cassettes into integrons // *Mol. Microbiol.*—1993.—9.—P. 41—52.
 9. Stokes H. W., Hall R. M. A novel family of potentially mobile DNA elements encoding site-specific gene-integration functions: integrons // *Mol. Microbiol.*—1989.—3.—P. 1669—1683.
 10. Collis C. M., Recchia G. D., Kim M.-J., Stokes H. W., Hall R. M. Efficiency of recombination reactions catalyzed by the class 1 integron integrase IntI1 // *J. Bacteriol.*—2001.—183.—P. 2535—2542.
 11. Zhao S., Qaiyumi S., Friedman S., Singh R., Foley S. L., White D. G., McDermott P. F., Donkar T., Bolin C., Munro S., Baron E. J., Walker R. D. Characterization of *Salmonella enterica* serotype newport isolated from humans and food animals // *J. Clin. Microbiol.*—2003.—41.—P. 5366—5371.
 12. DeLappe N., O'Halloran F., Fanning S., Corbett-Feeney G., Cheasty T., Cormican M. Antimicrobial resistance and genetic diversity of *Shigella sonnei* isolates from western Ireland, an area of low incidence of infection // *J. Clin. Microbiol.*—2003.—41.—P. 1919—1924.
 13. Poirel L., Heritier C., Tolun V., Nordmann P. Emergence of oxacillinase-mediated resistance to imipenem in *Klebsiella pneumoniae* // *Antimicrob. Agents and Chemother.*—2004.—48, N 1.—P. 15—22.
 14. Bagattini M., Crispino M., Gentile F., Barretta E., Schiavone D., Boccia M. C., Triassi M., Zarrilli R. A nosocomial outbreak of *Serratia marcescens* producing inducible Amp C-type beta-lactamase enzyme and carrying antimicrobial resistance genes within a class 1 integron // *J. Hosp. Infect.*—2004.—56, N 1.—P. 29—36.
 15. Collis C. M., Hall R. M. Expression of antibiotic resistance genes in the integrated cassettes of integrons // *Antimicrob. Agents and Chemother.*—1995.—39.—P. 155—162.
 16. Levesque C., Brassard S., Lapointe J., Roy P. H. Diversity and relative strength of tandem promoters for the antibiotic-resistance genes of several integrons // *Gene.*—1994.—142.—P. 49—54.
 17. Hall R. M., Brookes D. E., Stokes H. W. Site-specific insertion of genes into integrons: role of the 59-base element and determination of the recombination cross-over point // *Mol. Microbiol.*—1991.—5, N 8.—P. 1941—1959.
 18. Recchia G. D., Hall R. M. Origins of the mobile gene cassettes found in integrons // *Trends Microbiol.*—1997.—5.—P. 389—394.
 19. Cameron F. H., Groot Obbink D. J., Ackerman V. P., Hall R. M. Nucleotide sequence of the AAD(2^{II}) aminoglycoside adenyltransferase determinant *aadB*. Evolutionary relationship of this region with those surrounding *aadA* in R538-1 and *dhfr11* in R388 // *Nucl. Acids Res.*—1986.—14.—P. 8625—8635.
 20. Bissonnette L., Champetier S., Buisson J. P., Roy P. H. Characterization of the nonenzymatic chloramphenicol resistance (*cmI*) gene of the In4 integron of Tn1696: similarity of the product to transmembrane transport proteins // *J. Bacteriol.*—1991.—173.—P. 4493—4502.
 21. Biskri L., Mazel D. Erythromycin esterase gene *ere(A)* is located in a functional gene cassette in an unusual class 2 integron // *Antimicrob. Agents and Chemother.*—2003.—47.—P. 3326—3331.
 22. Bunny K. L., Hall R. M., Stokes H. W. New mobile gene cassettes containing an aminoglycoside resistance gene, *aacA7*, and a chloramphenicol resistance gene, *catB3*, in an integron in *pBWH301* // *Antimicrob. Agents and Chemother.*—1995.—39.—P. 686—693.
 23. Peters E. D. J., Leverstein-van Hall M. A., Box A. T. A., Verhoef J., Fluit A. C. Novel gene cassettes and integrons // *Antimicrob. Agents and Chemother.*—2001.—45.—P. 2961—2964.
 24. Stokes H. W., Holmes A. J., Nield B. S., Holley M. P., Nevalainen K. M. H., Mabbutt B. C., Gillings M. R. Gene cassette PCR: sequence-independent recovery of entire genes from environmental DNA // *Appl. Environ. Microbiol.*—2001.—67.—P. 5240—5246.
 25. Nield B. S., Holmes A. J., Gillings M. R., Recchia G. D., Mabbutt B. C., Nevalainen K. M., Stokes H. W. Recovery of new integron classes from environmental DNA // *FEMS Microbiol. Lett.*—2001.—195.—P. 59—65.
 26. Stokes H. W., O'Gorman D. B., Recchina G. D., Parsekhian M., Hall R. M. Structure and function of 59-base element recombination sites associated with mobile gene cassettes // *Mol. Microbiol.*—1997.—26, N 4.—P. 731—745.
 27. Partridge S. R., Brown H. J., Hall R. M. Characterization and movement of the class 1 integron known as Tn2521 and Tn1405 // *Antimicrob. Agents and Chemother.*—2002.—46.—P. 1288—1294.
 28. Esposito D., Scocca J. J. The integrase family of tyrosine recombinases: evolution of a conserved active site domain // *Nucl. Acids Res.*—1997.—25.—P. 3605—3614.
 29. Ouellette M., Roy P. H. Homology of ORFs from Tn 2603 and from R46 to site-specific recombinases // *Nucl. Acids Res.*—1987.—15.—P. 100—155.
 30. Pargellis C. A., Nunes-Duby S. E., Moitoso de Vargas L., Landy A. Suicide recombination substrates yield covalent λ integrase-DNA complexes and lead to identification of the active site tyrosine // *J. Biol. Chem.*—1988.—263.—P. 7678—7685.
 31. Messier N., Paul H. Roy integron integrases possess a unique additional domain necessary for activity // *Bacteriology.*—2001.—183, N 22.—P. 6699—6706.
 32. Holmes A. J., Holley M. P., Mahon A., Nield B., Gillings M., Stokes H. W. Recombination activity of a distinctive integron-gene cassette system associated with *Pseudomonas stutzeri* populations in soil // *J. Bacteriol.*—2003.—185.—P. 918—928.
 33. Drouin F., Melancon J., Roy P. H. The IntI-like tyrosine recombinase of *Shewanella oneidensis* is active as an integron integrase // *J. Bacteriol.*—2002.—184.—P. 1811—1815.
 34. Leon G., Roy P. H. Excision and integration of cassettes by an integron integrase of *Nitrosomonas europaea* // *J. Bacteriol.*—2003.—185.—P. 2036—2041.
 35. Hochhut B., Lofli Y., Mazel D., Faruque S. M., Woodgate R., Waldor M. K. Molecular analysis of antibiotic resistance gene clusters in *Vibrio cholerae* O139 and O1 SXT constains // *Antimicrob. Agents and Chemother.*—2001.—45.—P. 2991—3000.
 36. Radstrom P., Skold O., Swedberg G., Flensburg J., Roy P. H., Sundstrom L. Transposon Tn5090 of plasmid R751, which carries an integron, is related to Tn7, Mu, and the retroelements // *J. Bacteriol.*—1994.—176.—P. 3257—3268.
 37. Kamali-Moghaddam M., Sundstrom L. Transposon targeting determined by resolvase // *FEMS Microbiol. Lett.*—2000.—186.—P. 55—59.
 38. Brown H. J., Stokes H. W., Hall R. M. The integrons In0, In2, and In5 are defective transposon derivatives // *J. Bacteriol.*—1996.—178.—P. 4429—4437.

39. Hall R. M., Brown H. J., Brookes D. E., Stokes H. W. Integrations found in different locations have identical 5' ends but variable 3' ends // *J. Bacteriol.*—1994.—176.—P. 6286—6294.
40. Paulsen I. T., Littlejohn T. G., Radstrom P., Sundstrom L., Skold O., Swedberg G., Skurray R. A. The 3' conserved segment of integrons contains a gene associated with multidrug resistance to antiseptics and disinfectants // *Antimicrob. Agents and Chemother.*—1993.—37.—P. 761—768.
41. Sundstrom L., Radstrom P., Swedberg G., Skold O. Site-specific recombination promotes linkage between trimethoprim and sulfonamide resistance genes. Sequence characterization of *dfrV* and *sulI* and a recombination active locus of Tn21 // *Mol. and Gen. Genet.*—1988.—213.—P. 191—201.
42. Hall R. M., Vockler C. The region of the IncN plasmid R46 coding for resistance to β -lactam antibiotics, streptomycin/spectinomycin and sulphonamides is closely related to antibiotic resistance segments found in IncW plasmids and in Tn21-like transposons // *Nucl. Acids Res.*—1987.—15.—P. 7491—7501.
43. Stokes H. W., Hall R. M. A novel family of potentially mobile DNA elements encoding site-specific gene-integration functions: integrons // *Mol. Microbiol.*—1989.—3.—P. 1669—1683.
44. Fling M. E., Richards C. The nucleotide sequence of the trimethoprim-resistant dihydrofolate reductase gene harbored by Tn7 // *Nucl. Acids Res.*—1983.—11.—P. 5147—5158.
45. Miko A., Pries K., Schroeter A., Helmuth R. Multiple-drug resistance in D-tartrate-positive *Salmonella enterica* serovar paratyphi B isolates from poultry is mediated by class 2 integrons inserted into the bacterial chromosome // *Antimicrob. Agents and Chemother.*—2003.—47.—P. 3640—3643.
46. Arakawa Y., Murakami M., Suzuki K., Ito H., Wacharotayankun R., Ohnaka S., Kato N., Ohta M. A novel integron-like element carrying the metallo- β -lactamase gene *bla_{IMP}* // *Antimicrob. Agents and Chemother.*—1995.—39.—P. 1612—1615.
47. Correia M., Boavida F., Grosso F., Salgado M. J., Lito L. M., Cristino J. M., Mendo S., Duarte A. Molecular characterization of a new class 3 integron in *Klebsiella pneumoniae* // *Antimicrob. Agents and Chemother.*—2003.—47.—P. 2838—2843.
48. Collis C. M., Kim M.-J., Partridge S. R., Stokes H. W., Hall R. M. Characterization of the class 3 integron and the site-specific recombination system it determines // *J. Bacteriol.*—2002.—184.—P. 3017—3026.
49. Ploy M. C., Denis F., Courvalin P., Lambert T. Molecular characterization of integrons in *Acinetobacter baumannii*: description of a hybrid class 2 integron // *Antimicrob. Agents and Chemother.*—2000.—44, N 10.—P. 2684—2688.
50. Waldor M. K., Tschape H., Mekalanos J. J. A new type of conjugative transposon encodes resistance to sulfamethoxazole, trimethoprim, and streptomycin in *Vibrio cholerae* O139 // *J. Bacteriol.*—1996.—178.—P. 4157—4165.
51. Clark C. A., Purins L., Kaewrakon P., Manning P. A. VCR repetitive sequence elements in the *Vibrio cholerae* chromosome constitute a mega-integron // *Mol. Microbiol.*—1997.—26.—P. 1137—1138.
52. Hall R. M., Stokes H. W. Integrons or super integrons? // *Microbiology.*—2004.—150, N 1.—P. 3—4.
53. Holmes A. J., Gillings M. R., Nield B. S., Mabbitt B. C., Nevalainen K. M., Stokes H. W. The gene cassette meta-genome is a basic resource for bacterial evolution // *Environ. Microbiol.*—2003.—5.—P. 383—394.
54. Rowe-Magnus D. A., Guerout A. M., Mazel D. Super-integrons // *Res. Microbiol.*—1999.—150, N 9—10.—P. 641—651.
55. Mazel D., Dychinco B., Webb V. A., Davies J. A distinctive class of integron in the *Vibrio cholerae* genome // *Science.*—1998.—280.—P. 605—608.
56. Heidelberg J. F., Eisen J. A., Nelson W. C., Clayton R. A., Gwinn M. L., Dodson R. J., Haft D. H., Hickey E. K., Peterson J. D. DNA sequence of both chromosomes of the cholera pathogen *Vibrio cholerae* // *Nature.*—2000.—406.—P. 477—483.
57. Mazel D., Dychinco B., Webb V. A., Davies J. Antibiotic resistance in the ECOR collection: integrons and identification of a novel *aad* gene // *Antimicrob. Agents and Chemother.*—2000.—44.—P. 1568—1574.
58. Rowe-Magnus D. A., Guerout A.-M., Ploncard P., Dychinco B., Davies J., Mazel D. The evolutionary history of chromosomal super-integrons provides an ancestry for multiresistant integrons // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*—2001.—98.—P. 652—657.
59. Rowe-Magnus D. A., Guerout A.-M., Biskri L., Bouige P., Mazel D. Comparative analysis of superintegrons: engineering extensive genetic diversity in the *Vibrionaceae* // *Genome Res.*—2003.—13, N 3.—P. 428—442.
60. Engelberg-Kulka H., Glaser G. Addiction modules and programmed celldeath and antideath in bacterial cultures // *Annu. Rev. Microbiol.*—1999.—53.—P. 43—70.
61. Sierra S. S., Giraldo R., Orejas D. Functional interactions between *chpB* and *parD*, two homologous conditional killer systems found in the *Escherichia coli* chromosome and in plasmid R1 // *FEMS Microbiol. Lett.*—1998.—168.—P. 51—58.
62. Kobayashi I., Nobusato A., Kobayashi-Takahashi N., Uchiyama I. Shaping the genome-restriction-modification systems as mobile genetic elements // *Curr. Opin. Genet. Develop.*—1999.—9.—P. 649—656.
63. Vaisvila R., Morgan R. D., Posfai J., Raleigh E. A. Discovery and distribution of super-integrons among *Pseudomonads* // *Mol. Microbiol.*—2001.—42.—P. 587—601.
64. Liebert C. A., Hall R. M., Summers A. O. Transposon Tn21, flagship of the floating genome // *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*—1999.—63.—P. 507—522.
65. Naas T., Mikami Y., Imai T., Poirel L., Nordmann P. Characterization of In53, a class 1 plasmid and composite transposon-located integron of *Escherichia coli* which carries an unusual array of gene cassettes // *J. Bacteriol.*—2001.—183, N 1.—P. 235—249.
66. Klockgether J., Reva O., Larbig K., Tummler B. Sequence analysis of the mobile genome island *pKLC102* of *Pseudomonas aeruginosa* C // *J. Bacteriol.*—2004.—186.—P. 518—534.
67. Boyd D., Cloeckert A., Chaslus-Dancla E., Mulvey M. R. Characterization of variant *Salmonella* genomic island 1 multi-drug resistance regions from serovars *typhimurium* DT104 and *agona* // *Antimicrob. Agents and Chemother.*—2002.—46.—P. 1714—1722.
68. Dalsgaard A., Forslund A., Serichantalergs O., Sandvang D. Distribution and content of class 1 integrons in different *Vibrio cholerae* O-serotype strains isolated in Thailand // *Antimicrob. Agents and Chemother.*—2000.—44, N 5.—P. 1315—1321.
69. Centron D., Paul H. Roy presence of a group II intron in a multiresistant *Serratia marcescens* strain that harbors three integrons and a novel gene fusion // *Antimicrob. Agents and Chemother.*—2002.—46.—P. 1402—1409.
70. Bass L., Liebert C. A., Lee M. D., Summers A. O., White D. G., Thayer S. G., Maurer J. G. Incidence and characterization of integrons, genetic elements mediating multiple-drug resistance, in avian *Escherichia coli* // *Antimicrob. Agents and Chemother.*—1999.—43.—P. 2925—2929.

71. Sunde M., Sorum H. Self-transmissible multidrug resistance plasmids in *Escherichia coli* of the normal intestinal flora of healthy swine // *Microb. Drug Resist.*—2001.—7.—P. 191—196.
72. Roe M. T., Vega E., Pillai S. D. Antimicrobial resistance markers of class 1 and class 2 integron-bearing *Escherichia coli* from irrigation water and sediments // *Emerg. Infect Dis.*—2003.—9, N 7.—P. 822—826.
73. Hak Sun Yu, Je Chul Lee, Hee Young Kang, Dong Woo Ro. Changes in gene cassettes of class 1 integrons among *Escherichia coli* isolates from urine specimens collected in Korea during the last two decades // *J. Clin. Microbiol.*—2003.—41.—P. 5429—5433.
74. Shibata N., Doi Y., Yamane K., Yagi T., Kurokawa H., Shibayama K., Kato H., Kai K., Arakawa Y. PCR typing of genetic determinants for metallo- β -lactamases and integrases carried by gram-negative bacteria isolated in Japan, with focus on the class 3 integron // *J. Clin. Microbiol.*—2003.—41.—P. 5407—5413.
75. Goldstein C., Lee M. D., Sánchez S., Hudson C., Phillips B., Register B., Grady M., Liebert C., Summers A. O., White D. G., Maurer J. J. Incidence of class 1 and 2 integrases in clinical and commensal bacteria from livestock, companion animals, and exotics // *Antimicrob. Agents and Chemother.*—2001.—45.—P. 723—726.
76. Jae Young Oh, Hak Sun Yu, Sung Ki Kim, Seong Yong Seol, Dong Taek Cho, Je Chul Lee. Changes in patterns of antimicrobial susceptibility and integron carriage among *Shigella sonnei* isolates from southwestern Korea during epidemic periods // *J. Clin. Microbiol.*—2003.—41.—P. 421—423.
77. Ploy M.-C., Chainier D., Nhu Hoa Tran Thi, Poilane I., Cruaud P., Denis F., Collignon A., Lambert T. Integron-associated antibiotic resistance in *Salmonella enterica* serovar typhi from Asia // *Antimicrob. Agents and Chemother.*—2003.—47.—P. 1427—1429.
78. Poirel L., Heritier C., Tolun V., Nordmann P. Emergence of oxacillinase-mediated resistance to imipenem in *Klebsiella pneumoniae* // *Antimicrob. Agents and Chemother.*—2004.—48.—P. 15—22.
79. Soto S. M., Lobato M. J., Mendoza M. C. Class 1 integron-borne gene cassettes in multidrug-resistant *Yersinia enterocolitica* strains of different phenotypic and genetic types // *Antimicrob. Agents and Chemother.*—2003.—47.—P. 421—426.
80. Laraki N., Galleni M., Thamm I., Riccio M.-L., Amicosante G., Frere J.-M., Rossolini G.-M. Structure of In31, a *bla*_{IMP}-containing *Pseudomonas aeruginosa* integron phylogenetically related to In5, which carries an unusual array of gene cassettes // *Antimicrob. Agents and Chemother.*—1999.—43.—P. 890—901.
81. Lee K., Lim J. B., Yum J. H., Yong D., Chong Y., Kim J. M., David M. Livermore *bla*_{VIM-2} cassette-containing novel integrons in metallo- β -lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa* and *Pseudomonas putida* isolates disseminated in a Korean hospital // *Antimicrob. Agents and Chemother.*—2002.—46.—P. 1053—1058.
82. Docquier J.-D., Riccio M. L., Mugnaioli C., Luzzaro F., Endimiani A., Toniolo A., Amicosante G., Rossolini G. M. IMP-12, a new plasmid-encoded metallo- β -lactamase from a *Pseudomonas putida* clinical isolate // *Antimicrob. Agents and Chemother.*—2003.—47.—P. 1522—1528.
83. Schmitz F.-J., Hafner D., Geisel R., Follmann P., Kirschke C., Verhoef J., Kohrer K., Ad C. Fluit increased prevalence of class 1 integrons in *Escherichia coli*, *Klebsiella* species, and *Enterobacter* species isolates over a 7-year period in a German University Hospital // *J. Clin. Microbiol.*—2001.—39.—P. 3724—3726.
84. Schluter A., Heuer H., Szczepanowski R., Forney L. J., Thomas C. M., Puhler A. D., Top E. M. The 64508 bp IncP-1beta antibiotic multiresistance plasmid *pB10* isolated from a waste-water treatment plant provides evidence for recombination between members of different branches of the IncP-1beta group // *Microbiology.*—2003.—149, N 11.—P. 3139—3153.

УДК 579.25

Надійшла до редакції 09.02.04