

# БИОЛОГИЯ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МЕДИЦИНА

УДК 579.61:616-078

## ОСОБЕННОСТИ ГЕНЕТИЧЕСКОГО КОНТРОЛЯ БИОПЛЕНКООБРАЗОВАНИЯ У БАКТЕРИЙ РОДА *ACINETOBACTER*

А.П. Соломенный<sup>1\*</sup>, Н.А. Зубарева<sup>2</sup>, А.Е. Гончаров<sup>3,4,5</sup>

<sup>1</sup>Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения РАН, г. Пермь,

<sup>2</sup>Пермский государственный медицинский университет им. академика Е.А. Вагнера,

<sup>3</sup>Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова,  
г. Санкт-Петербург,

<sup>4</sup>Институт экспериментальной медицины, г. Санкт-Петербург,

<sup>5</sup>Санкт-Петербургский государственный университет, Россия

## GENETIC CONTROL PECULIARITIES OF BIOFILM FORMATION IN *ACINETOBACTER* GENUS BACTERIA

A.P. Solomenny<sup>1\*</sup>, N.A. Zubareva<sup>2</sup>, A.E. Goncharov<sup>3,4,5</sup>

<sup>1</sup>Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms of RAS Ural Branch, Perm,

<sup>2</sup>Perm State Medical University named after E.A. Wagner,

<sup>3</sup>Northwestern State Medical University named after I.I. Mechnikov, St. Petersburg,

<sup>4</sup>Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg,

<sup>5</sup>St. Petersburg State University, Russian Federation

**Цель.** Выявление степени полиморфизма оперона *pgaABCD*, критически значимого в процессе образования биопленок у бактерий рода *Acinetobacter*, для оценки возможного горизонтального генетического переноса от других патогенов.

**Материалы и методы.** Оперон *pgaABCD* изучен молекулярно-генетическими методами у клинических и природных *Acinetobacter spp.*, отнесенных к разным видам, в том числе устойчивые к карбапенемам *A. baumannii* – патогены списка ESCAPE. Выбор штаммов был обусловлен экспериментально доказанной у них способностью образовывать биопленки. Для сравнения использован штамм *Escherichia coli* O157:H7 Sakai, представитель патогенетической подгруппы EHEC.

**Результаты.** Показатель содержания G+C нуклеотидов в последовательности оперона исследуемых штаммов достоверно отвечает характеристическому видовому критерию. Выявлен полиморфизм ами-

© Соломенный А.П., Зубарева Н.А., Гончаров А.Е., 2016

тел. 8 (342) 280-83-32

e-mail:solomen@iegm.ru

[Соломенный А.П. (\*контактное лицо) – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории водной микробиологии; Зубарева Н.А. – доктор медицинских наук, профессор кафедры общей хирургии № 1; Гончаров А.Е. – кандидат медицинских наук, доцент кафедры эпидемиологии, паразитологии и дезинфектологии, заведующий лабораторией функциональной геномики и протеомики микроорганизмов, ассистент кафедры фундаментальных проблем медицины и медицинских технологий].

нокислотных (транслированных) последовательностей в виде замен несходных аминокислот (кислотных на нейтральные неполярные, нейтральных на основные и кислотные, различных по показателю гидрофобности). При сопоставлении клинических изолятов *A. baumannii* 60perm и сверхпродуцента биопленки MAR002 показаны замены аминокислот, включая несходные, в последовательности *pgaAB*. Картирование всего оперона *A. baumannii* 60perm (Россия) и MAR002 (Испания) показало идентичный порядок его расположения на хромосоме.

**Выводы.** Порядок и расположение генов, показатель содержания нуклеотидов G+C, мол.%, наличие несходных аминокислотных замен не поддерживают предположение о горизонтальном переносе оперона *pgaABCD* извне рода *Acinetobacter*. Полиморфизм аминокислотных последовательностей в опероне синтеза поли-бета-(1-6)-N-ацетилглюкозамина (PNAG) отличает группу *A. baumannii/A.nosocomialis*. Полученный в работе материал может быть полезен при построении компьютерных (*in silico*) моделей наиболее активных биопленкообразующих структур.

**Ключевые слова.** Биопленкообразование, поли-бета-(1-6)-N-ацетилглюкозамин, оперон *pgaABCD*, горизонтальный генетический перенос, *Acinetobacter baumannii*, *Escherichia coli* O157:H7, карбапенемы, *in silico* методы

**Aim.** The aim of the study was to detect the degree of polymorphism of the operon *pgaABCD*, critically significant in the process of biofilm formation in bacteria of *Acinetobacter* genus, so as to assess the possible horizontal gene transfer from the other pathogens.

**Materials and methods.** The operon *pgaABCD* was studied using molecular-genetic methods in clinical and natural *Acinetobacter* spp, belonging to different species including *A. baumannii* resistant to carbapenems - pathogens of ESCAPE list. The choice of strains was also conditioned by their experimentally proved ability to form biofilms. To compare, the strain *Escherichia coli* O157:H7 Sakai, the representative of pathogenetic subgroup EHEC, was used.

**Results.** The G+C nucleotide content index in operon sequence of the studied strains reliably corresponds to the characteristic specific criterion. Polymorphism of amino acid (translated) sequences in the form of dissimilar amino acid substitutions (acid amino acids for neutral nonpolar ones; neutral - for basic and acid - different by hydrophobicity index) was revealed. While comparing clinical isolates *A. baumannii* 60perm and biofilm hyperproducer MAR002 there were shown amino acid substitutions including dissimilar ones, in *pgaAB* sequence. Mapping of the operon *A. baumannii* 60perm (Russia) and MAR002 (Spain) demonstrated an identical order of its location on the chromosome.

**Conclusions.** The order and location of the genes, G+C nucleotide content index, mol.%, availability of dissimilar amino acid substitutions do not support the assumption on horizontal transfer of the operon *pgaABCD* out of *Acinetobacter* genus. Polymorphism of amino acid sequences in the operon of poly-beta-(1-6)-N-acetylglucosamine (PNAG) synthesis is typical for *A. baumannii/A.nosocomialis* group. The obtained material can be used for the development of computer (*in silico*) models of the most active biofilm-forming structures.

**Key words.** Biofilm formation, poly-beta-(1-6)-N-acetylglucosamine (PNAG), operon *pgaABCD*, horizontal gene transfer, *Acinetobacter baumannii*, *Escherichia coli* O157:H7, carbapenems, *in silico* methods.

## ВВЕДЕНИЕ

В медицинских учреждениях, оказывающих высокотехнологичные виды помощи, ведущими возбудителями госпитальных инфекций являются ESCAPE-патогены, в том числе *Acinetobacter baumannii* [5]. В настоящее время особую опасность представляют карбапенемоустойчивые штаммы пандеми-

ческих линий [11]. Возбудители в форме биопленки способны контаминировать как биотические, так и абиотические субстраты, например, сосудистые катетеры, и приводить к развитию катетерассоциированных инфекций кровотока [3]. Внутри биопленок сесильные бактерии, как правило, отличаются повышенной резистентностью к антибиотикам [2].

Способность бактериальных клеток к биопленкообразованию на гидрофильных (например, стекле) или гидрофобных (например, пластик) субстратах определяется экспрессией ряда независимых или связанных между собой генетических элементов, в числе которых оперон *pgaABCD*, участвующий в синтезе и транспорте внеклеточного полисахарида поли-бета-(1-6)-N-ацетилглюкозамина (PNAG) [9, 14]. Благодаря способности продуцировать PNAG ацинетобактер может образовывать плотную (тугую) биопленку и на границе раздела фаз «воздух–жидкость» при координации процесса с экспрессией генетического комплекса *csuA/B*, контролирующего шаперон-ашерную сборку пилей [5, 9]. У *A. baumannii* ген *pgaA* кодирует белок наружной мембраны (812 аминокислотных остатков), который лишь на 26 % идентичен *PgaA* у *Escherichia coli*. *PgaA* состоит из поринового и периплазматического доменов, что обеспечивает трансмембранный перенос PNAG. Ген *pgaB* кодирует деацетилазу, катализирующую удаление ацетильной группы при транслокации PNAG. Ген *pgaC* в составе оперона кодирует N-гликозилтрансферазу второго семейства (424 аминокислотных остатка), а белок-продукт гена *pgaD* находится в цитоплазме

и, по-видимому, действует координированно с *PgaC* [14].

Сравнительный генетический анализ показал, что оперон *pgaABCD* среди эубактерий скорее всего переносится горизонтально [7]. Отсюда *цель данного исследования* – определить методами *in silico* степень полиморфизма нуклеотидных и аминокислотных последовательностей оперона у патогенных и природных видов/штаммов ацинетобактера и подтвердить или опровергнуть факт горизонтального генетического переноса *in vivo*.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В числе объектов исследования – представители рода *Acinetobacter*, выделенные из клинического материала и природных образцов в различных географических зонах. Клинические изоляты обладают генами металло-бета-лактамазы и оксацилииназ, гидролизующих карбапенемы. У ряда из них экспериментально показана способность формировать плотную биопленку (таблица). В геноме штамма *A. baumannii* 60perm (MLST-тип 208-й пандемической линии II) присутствуют области, привнесенные пос-

#### Идентификация, место выделения, фено- и генотипические данные

Характеристика штамма	G+C, мол.%, по данным WGS	G+C, мол.%, в опероне <i>pgaABCD</i>		
		<i>pgaA</i>	<i>pgaB</i>	<i>pgaC</i>
1	2	3	4	5
<i>A. baumannii</i> 60perm, клинический изолят (гемокультура), OXA-66 и OXA-72-позитивный, образует плотную биопленку (Пермь, Россия)	39,0	38,8	36,7	39,0
<i>A. baumannii</i> 1656-2, клинический изолят, теллуриг <sup>®</sup> , PER-1, OXA-109-позитивный, образует плотную биопленку (Южная Корея)	39,2	38,8	36,7	39,0
<i>A. baumannii</i> 28, клинический изолят, OXA-88-позитивный, ISCR2-позитивный (Санкт-Петербург, Россия)	38,9	39,2	37,0	39,1
<i>A. baumannii</i> MAR002, клинический изолят, способен к сверхпродукции биопленки (Испания)	39,1	39,3	36,9	38,9

Окончание таблицы

1	2	3	4	5
<i>A. nosocomialis</i> 6411 клинический изолят, NDM-1-позитивный (Колумбия)	38,8	39,2	36,7	38,1
<i>A. pittii</i> AP_882, клинический изолят, NDM-1 и OXA-58-позитивный (Малайзия)	38,8	38,7	37,3	40,7
<i>A. pittii</i> ( <i>calcoaceticus</i> ) PHEA-2, выделен из сточной воды промпредприятия, способен к росту на феноле (Китай)	38,8	38,7	37,4	40,7
<i>A. oleivorans</i> DR1, выделен из почвы рисового поля, способен к адгезии и росту на <i>n</i> -гексаксидане и дизельном топливе (Южная Корея)	38,7	39,0	37,3	40,9
<i>E. coli</i> O157:H7 Sakai, подгруппа EHEC патогенетической группы Shiga-toxigenic <i>E. coli</i> (Япония)	50,5	47,3	44,3	46,8

Примечание: WGS – полногеномное секвенирование. Данные по GC-составу для *pgaD* не приведены вследствие размера гена (всего 465 пар нуклеотидов).

редством горизонтального переноса и обнаруживаемые также у штаммов азиатского происхождения (GenBank acc. no. AUZL00000000). Помимо ацинетобактеров использованы данные хорошо генетически характеризованного штамма *E. coli* O157:H7 Sakai, вызвавшего в 1996 г. вспышку инфекции среди 8000 школьников г. Сакаи, Япония [10].

Для выравнивания аминокислотных (транслированных) последовательностей применена программа *Multiple Sequence Alignment* (The European Bioinformatics Institute). Сравнительный анализ выполнен с привлечением ресурсов BLAST и BLASTClust, а также UniProt-KB/Swiss-Prot. Дендрограмма построена методом минимума эволюции (minimum-evolution method) с использованием программы MEGA, версия 6.0, показатель достоверности порядка ветвления определен на основании bootstrap-анализа, включавшего построение 1000 случайных деревьев.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Один из постулатов молекулярной генетики утверждает, что G+C-контент в ДНК не поддается существенному изменению в результате мутаций. У всех изученных пред-

ставителей рода *Acinetobacter* процентное содержание G- и C- нуклеотидов в опероне биосинтеза PNAG практически соответствует характеристической видовой величине (таблица). В целом различия нуклеотидных последовательностей для генов, составляющих оперон *pgaABCD* внутри патогенетической группы *Acinetobacter calcoaceticus-baumannii* (в терминах идентичности, но не сходства), находятся в диапазоне 0–20 %, а различия между *A. baumannii* и *A. oleivorans* незначительно превышают 20 % (E-value 0.0). Картирование оперона на хромосоме штаммов *A. baumannii* 60perm и MAR002, «фланкирующих» по месту выделения территорию Европы, не выявило различий, он расположен между генами, кодирующими регулятор фосфоенолпируватсинтазы и флавопротеин (циклогексанон монооксигеназа, EC 1.14.13.22). Тогда как у штамма *E. coli* O157:H7 отличие процентного содержания G- и C-нуклеотидов в опероне синтеза PNAG от характеристической видовой величины более выражено. Однако лишь различие  $\geq 10$  % между показателем геномного G+C, мол.% контента и мол.% в конкретном опероне может рассматриваться в числе убедительного доказательства факта горизонтального переноса [13], хотя некоторые аме-

лиорации неродственного материала в структурированном геноме нового хозяина допускаются. Следует обратить внимание, что плаزمида pO157 необходима штамму Sakai для синтеза плотной (тугой) биопленки, полезной, например, при колонизации поверхности пищевых продуктов [8]. Поэтому не исключено участие и иного мобильного генетического элемента в контроле процесса образования биопленки.

Количество и распределение не- и синонимичных нуклеотидных замен в *pgaABCD* можно рассмотреть в качестве дискриминирующего признака для отдельных видов/штаммов. Все же особое внимание при поиске и анализе различий уделено первичной аминокислотной последовательности и более детально для *pgaA*, поскольку он рассматривается как «белок для синтеза биопленки» [12]. На рис. 1 представлены для сравнения позиции 511–800, поскольку методами рентгеноструктурного анализа и компьютерного молекулярного моделирования здесь для участка А-цепи построен 3D-образ (у *E. coli*). Видовой полиморфизм выражен в основном в виде замен сходных аминокислот. Однако выявлены и несходные замены, например, глутаминовой и аспарагиновой кислот на нейтральные неполярные глицин и аланин (позиции 529 и 682 на рис. 1 соответственно), полярной нейтральной аминокислоты аспарагин на полярный основной лизин (позиция 548), а также глицина на полярный основной аргинин (позиция 784). Замена «глицин–аргинин» не является единственной несходной, которая дискриминирует последовательность *pgaA* штамма MAR002, опубликованного как сверхпродуцент биопленки [6]. Так, показаны замены (в сравнении с *A. baumannii* 60perm) Ser → Phe (нейтральная полярная на неполярную) и Asp → Ser (существенное различие в показателе гидрофобности). Таким обра-

зом оказалось, что полиморфизм аминокислотной последовательности *pgaA* можно использовать для дискриминации различных видов ацинетобактера, в частности отделить группу *A. baumannii/A. nosocomialis* от *A. pittii* (рис. 2). Такая дискриминация вызывает несомненный интерес, поскольку перечисленные виды традиционно включают в единый патогенетический комплекс *A. calcoaceticus* – *baumannii*. Подобные различия выявляются при сравнении последовательности *pgaBC* (не приведены, включают замены неполярных нейтральных аминокислот на основные и кислотные и замены аминокислот, отличные по гидрофобности). У MAR002 в последовательности *pgaB* в сравнении с *A. baumannii* 60perm показаны пять несходных замен, в том числе Gly → Asp (неполярная нейтральная на кислотную) и His → Tyr (основная аминокислота на нейтральную). Известно, что замены несходных аминокислот находят выражение в пространственной структуре белка, определяющей активность продукта.

Следующим этапом исследования станет локализация вариабельных участков на 3D-моделях белков при использовании возможностей сервера I-TASSER [12]. Подобный образ, полученный методом *in silico*-симуляции, в 2016 г. опубликован для *pgaC* штамма *A. junii* SH20534 [12]. Аминокислотная последовательность *pgaC* здесь сильно дискриминирована от *A. baumannii* (в терминах идентичности и сходства), однако все консервативные аминокислоты, включая пять критически значимых (Asp<sup>140</sup>, Asp<sup>233</sup>, Gln<sup>269</sup>, Arg<sup>272</sup> и Trp<sup>273</sup>), присутствуют на своих позициях [12].

Расширение исследуемой видовой выборки станет доступным в ближайшее время, поскольку «технология секвенирования ДНК становится рутинной операцией, более быстрой и более дешевой...» [1]. Применяя *in silico*-моделирование при анализе массива

8	SHSTTWGQSKAADS	SVSGQNGLKDREMETRLNS	FWIKDNYRFLFAWHQDRYGEYRFGDVH	
7	SHSTTWGQSKAENS	DSVSGQNGLKDREMETRLNS	FWIKDNYRFLFAWHQDRYGEYRFGDVH	
6	SHSTTWGQSKAENS	DSVSGQNGLKDREMETRINS	FWIKDNYRFLFAWHQDRYGEYRFGDVH	
5	SHSTTWGQSKAENS	DSVSGQNGLKDREMETRVNS	FWIKDNYRFLFAWHQDRYGEYRFGDVH	
4	SHSTTWGQSKADNS	DTVSGQNGLKDREMETRLNS	FWIKDNYRFLFAWHQDRYGEYRFGDVH	
3	SHSTTWGQSKADGR	DTVSGQNGLKDREMETRLNS	FWIKDNYRFLFAWHQDRYGEYRFGDVH	
2	SHSTTWGQSKADGR	DTVSGQNGLKDREMETRLNS	FWIKDNYRFLFAWHQDRYGEYRFGDVH	
1	SHSTTWGQSKAEGR	DTVSEQNGLKDREMETRLNS	FWINDNYRFLFAWHQDRYGEYRFGDVH	
	*****--*:--*****:*****:*****			511-570
8	DORYGVGAEWQANR	KALSAILSQSTDGGQAGVRLDWSQWLNDHWQYQLQYDSQAN	IPLQA	
7	DORYGVGAEWQANR	KALSAILSQSTDGGQAGVRLDWSQWLNDHWQYQLQYDSQAN	IPLQA	
6	DORYGVGAEWQANR	KALSAILSQSTDGGQAGVRLDWSQWLNDHWQYQLQYDSQAN	IPLQA	
5	DORYGVGAEWQANR	KVFSAILSQSTDGSAQVRLDWSQWLNDHWQYQLQYDSQAN	IPLQA	
4	DORYGVGAEWQANR	KALSAILSQSTDGGQAGVRLDWSQWLNDHWQYQLQYNSQAD	IPLQA	
3	DORYGVGAEWQANR	KALSAILSQSTDGGQAGVRLDWSQWLNDHWQYQLQYNSQAD	IPLQA	
2	DORYGVGAEWQANR	KALSAILSQSTDGGQAGVRLDWSQWLNDHWQYQLQYNSQAD	IPLQA	
1	DORYGVGAEWQANR	KALSAILSQSTDGGQAGVRLDWSQWLNDHWQYQLQYNSQAD	IPLQA	
	*****--*:--*****:*****:*****			571-630
8	IDAGEDGQAYRAAL	TWQKDESRQIGASYGLTD	ISDGNKQQEFSTFWRERLFDAPHHITYG	
7	IDAGEDGQAYRAAL	TWQKDESRQIGASYGLTD	ISDGNKQQEFSTFWRERLFDAPHHITYG	
6	IDAGEDGQAYRAAL	TWQKDESRQIGASYGLTD	ISDGNKQQEFSTFWRERLFDAPHHITYG	
5	IDAGEDGQAYRAAL	TWQKDESRQIGASYGLTD	ISDGNKQQEFSTFWRERLFDAPHHITYG	
4	IDAGEDGQSYRAAL	TWQKDESRQIGASYGLTD	ISDGNKQQEFSTFWRERLFAAPHHITYG	
3	LDAGEDGQSYRAAV	TWQKDESRQIGASYGLTD	ISDGNKQQEFSTFWRERLFDAPHHITYG	
2	LDAGEDGQSYRAAV	KWQKDESRQIGASYGLTD	ISDGNKQQEFSTFWRERLFDAPHHITYG	
1	LDAGEDGQSYRAAV	TWQKDESRQIGASYSLTD	ISDGNKQQEFSTFWRERLFDAPHHITYG	
	*****:*****:*****:*****:*****			631-690
8	TVRFGYGSNSQDQ	TAYFSPSNHYSABLNL	SHDWVTWREYERSFKQHFEAGVGLYKQADYS	
7	TVRFGYGSNSQDQ	TAYFSPSNHYSABLNL	SHDWVTWREYERSFKQHFEAGVGLYKQADYS	
6	TVRFGYGSNSQDQ	TAYFSPSNHYSABLNL	SHDWVTWREYERSFKQHFEAGVGLYKQADYS	
5	TVRFGYGSNSQDQ	TAYFSPSNHYSABLNL	SHDWVTWREYERSFKQHFEAGVGLYKQADYS	
4	TVRFGYGSNSQDQ	TTFSPSSHYSABLNL	SHDWVTWREYERSFKQHFEAGVGLYKQADYS	
3	TVRFGYGTNSQDQ	TAYFSPSSHYSABLNL	SHDWVTWREYERSFKQHFEAGVGLYKQADYS	
2	TIRFGYGTNSQDQ	TAYFSPSSHYSABLNL	SHDWVTWREYERSFKQHFEAGVGLYKQADYS	
1	TVRFGYGTNSQDQ	TAYFSPSSHYSABLNL	SHDWVTWREYERSFKQHFEAGVGLYKQADYS	
	*:*****:*****:*****:*****:*****			691-750
8	ARPTYSLQYQH	QWQLSRTWQLNYGIGWQYHPYDGHDEQHTYGI	FGFEGRF	
7	ARPTYSLQYQH	QWQLSRTWQLNYGIGWQYHPYDGHDEQHTYGI	FGFEGRF	
6	ARPTYSLQYQH	QWQLSRTWQLNYGIGWQYHPYDGHDEQHTYGI	FGFEGRF	
5	ARPTYSLQYQH	QWQLSRTWQLNYGIGWQYHPYDGHDEQHTYGI	FGFEGRF	
4	TKPTYSLQYQH	QWQLSRTWQLNYGIGWQYHPYDGHDEQHTYGI	FGFEGRF	
3	AKPTYSLQYQH	QWQLSRTWQLNYGIGWQYHPYDRHDEQHTYGI	FGFEGRF	
2	AKPTYSLQYQH	QWQLSRTWQLNYGIGWQYHPYDGHDEQHTYGI	FGFEGRF	
1	AKPTYSLQYQH	QWQLSRTWQLNYGIGWQYHPYDGHDEQHTYGI	FGFEGRF	
	*:*****:*****:*****:*****:*****			751-800

Рис. 1. Фрагмент аминокислотной (транслированной) последовательности *pgaA* в сравнении между видами/штаммами рода *Acinetobacter*.

Примечание. *PgaA* (позиции 511-800): *A. baumannii* штаммы 60perm и 1656-2, GenBank acc. no. AUZL0000000 и CP001921 (1); *A. baumannii* штамм 28, GenBank acc. no. MAFT0000000 (2), *A. baumannii* штамм MAR002, GenBank acc. no. JRH01000001 (3); *A. nosocomialis* штамм 6411, UniProt-KB acc. no. A0A0A7XJA0 (4); *A. pittii* штамм AP\_882, GenBank acc. no. CP014477 (5); *A. pittii (calcoaceticus)* штамм PHEA-2, UniProt-KB acc. no. FOKHU1 (6); *A. oleivorans* штамм DR1, UniProt-KB acc. no. D8JGK8 (7); перспективный биоремедиатор *A. oleivorans* штамм PF-1, UniProt-KB acc. no. A0A0B2UD36 (8).

Позиции замен сходных аминокислот [4] выделены двоеточием, несходных аминокислот – подчеркиванием

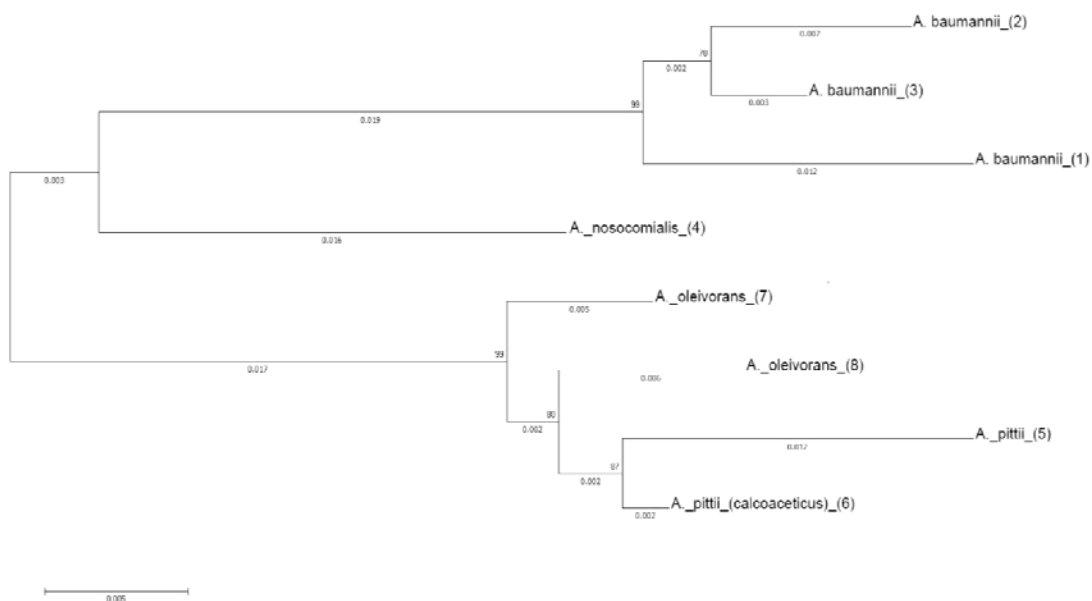


Рис. 2. Дендрограмма, иллюстрирующая сходство аминокислотных (транслированных) последовательностей *pgaA* (позиции 511–800). Обозначения штаммов соответствуют таковым на рис. 1

данных можно построить образ наиболее эффективно синтезирующей PNAG структуры. Также рассматривая способность к формированию плотной биопленки в числе факторов вирулентности, следует приступить к созданию модели «наиболее вирулентного» штамма. Подобное моделирование особенно ценно при изучении бактериальных таксонов, включающих как патогенные, так и непатогенные виды (*Acinetobacter*, *Pseudomonas*, *Rhodococcus* и т.п.).

## Выводы

1. Генетический ресурс в виде оперона биосинтеза PNAG, необходимого для образования биопленки, присутствует как у патогенных, так и непатогенных представителей рода *Acinetobacter*. Средствами *in silico*-анализа возможно дискриминировать группу *A. baumannii/A. nosocomialis* от перспективных для биоремедиации *A. oleivorans*.

2. Обнаруженный порядок генов, содержание G+C, мол.%, наличие несходных

аминокислотных замен не подтверждают факт переноса оперона *pgaABCD* роду *Acinetobacter* от других патогенов.

3. Полиморфизм аминокислотных последовательностей (не только на уровне одиночных замен) играет, по-видимому, важную роль в механизме выживания ацинетобактера в виде биопленок, включая госпитальную внешнюю среду. В перспективе на основе *in silico*-моделей возможно будет отбирать и контролировать штаммы, способные к сверхпродукции полисахарида PNAG и биопленки.

Исследование получило финансовую поддержку Комплексной программы Уральского отделения РАН, проект 15-4-2-2.

## Библиографический список

1. Стратегия развития медицинской науки в РФ до 2025 года. Распоряжение Правительства РФ от 28 декабря 2012 г. № 2580-п; available at: <http://www.garant.ru/products/ipo/prime/doc/70192396/>.

2. Горюшиц Э.С., Гордина Е.М., Поспелова С.В., Алиева Л.О., Щукина В.П. Влияние ципрофлоксацина на 24-часовые био пленки *Staphylococcus aureus*. Проблемы мед. микологии 2016; 2: 57.
3. Руководство по инфекционному контролю в стационаре / под ред. Р. Венцеля, Т. Бревера, Ж-П. Бутцлера. Смоленск: МАКМАХ 2003; 272.
4. Хасанов Ф.К. Идентификация новых генов дрожжей *S. pombe* и их роль в рекомбинационной репарации ДНК: автореф. дис. ... д-ра биол. наук. М. 2011; 50.
5. Чеботарь И.В., Лазарева А.В., Масалов Я.К., Михайлович В.М., Маянский Н.А. *Acinetobacter*: микробиологические, патогенетические и резистентные свойства. Вестник РАМН 2014; 9–10: 39–50.
6. Álvarez-Fraga L., López M., Merino M., Rumbo-Feal S., Tomás M., Bou G., Poza M. Draft genome sequence of the biofilm-hyperproducing *Acinetobacter baumannii* clinical strain MAR002. Genome Announc 2015; 3(4): e00824–15.
7. Beloin C., Roux A., Ghigo J.M. *Escherichia coli* biofilms. Curr. Top. Microbiol. Immunol. 2008; 322: 249–89.
8. Ji Youn Lim, Hyun Joon La, Haiqing Sheng, Forney L.J., Hovde C.J. Influence of plasmid pO157 on *Escherichia coli* O157:H7 Sakai biofilm formation. Appl. Environ. Microbiol. 2010; 76: 963–966.
9. Longo F., Vuotto C., Donelli G. Biofilm formation in *Acinetobacter baumannii*. New Microbiol. 2014; 37: 119–127.
10. Michino H., Araki K., Minami S., Takaya S., Sakai N., Miyazaki M., Ono A., Yanagawa H. Massive outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infection in schoolchildren in Sakai City, Japan, associated with consumption of white radish sprouts. Am. J. Epidemiol. 1999; 150: 787–796.
11. Solomennyi A., Goncharov A., Zueva L. Extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii* belonging to the International clonal lineage I in a Russian burn intensive care unit. Int J. Antimicrob. Agents 2015; Vol. 5: 525–528.
12. Tiwary B.K., Kumar A., Pathak R.K., Pandey N, Yadav K.K., Chakraborty R. The locus PgaABCD of *Acinetobacter junii* putatively responsible for poly-β-(1,6)-N-acetylglucosamine biosynthesis might be related to biofilm formation: a computational analysis. Adv. Microbiol. 2016; 6: 222–232.
13. Yubua Zhan, Yongliang Yan, Wei Zhang, Ming Chen, Wei Lu, Shuzhen Ping, Min Lin Comparative analysis of the complete genome of an *Acinetobacter calcoaceticus* strain adapted to a phenol-polluted environment. Res. Microbiol. 2012; 163: 36–43.
14. Zarrilli R. *Acinetobacter baumannii* virulence determinants involved in biofilm growth and adherence to host epithelial cells. Virulence 2016; 7: 367–368.

Материал поступил в редакцию 27.05.2016