

# Бактериальные токсин-антитоксиновые системы и новые стратегии создания антибактериальных препаратов

\*Б. Г. АНДРЮКОВ<sup>1,2</sup>, Н. Н. БЕСЕДНОВА<sup>1</sup>, Т. С. ЗАПОРОЖЕЦ<sup>1</sup>, М. П. БЫНИНА<sup>1</sup>

<sup>1</sup> НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г. П. Сомова, Владивосток

<sup>2</sup> Дальневосточный федеральный университет, Владивосток

## Bacterial Toxin-Antitoxin Systems and New Strategies for Creating Antibacterial Preparations

B. G. ANDRYUKOV<sup>1,2</sup>, N. N. BESEDNOVA<sup>1</sup>, T. S. ZAPOROZHETS<sup>1</sup>, M. P. BYNINA<sup>1</sup>

<sup>1</sup> G.P. Somov Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Vladivostok, Russia

<sup>2</sup> Far Eastern Federal University, Vladivostok, Russia

Интенсивные исследования бактериальных токсин-антитоксиновых систем (ТАС) в последние десятилетия позволили значительно расширить и углубить знания о них. По мере открытия модулей ТАС вначале в плазидах, а в дальнейшем в хромосомах бактерий, и последующего изучения специфической регуляции активации и функций происходила трансформация отношения к ним как от просто любопытных генетических объектов до одного из важнейших инструментов, играющих решающую роль в бактериальной защите и адаптации к неблагоприятным условиям роста, в том числе, микробной персистенции и хронизации инфекционных процессов, формировании антибиотикорезистентности. Стало понятно, что эти небольшие генетические модули, распространённые почти повсеместно в геномах бактерий, обладают высоким потенциалом для биотехнологических и биомедицинских инновационных исследований, а также перспективны для развития принципиально новых антибактериальных технологий. С учётом ведущей роли ТАС в выживании патогенных бактерий и развитии инфекционного процесса, современные технологии создания альтернативных антибактериальных стратегий рассматривают эти системы в качестве перспективных мишеней для разработки новых антимикробных препаратов.

*Ключевые слова:* токсин-антитоксиновые системы, антибактериальная резистентность, антибиотикотерапия, альтернативы.

Intensive research of bacterial toxin-antitoxin systems (TAS) in recent decades has significantly expanded and deepened knowledge about them. As TAS modules were first discovered in the plasmids and later in the chromosomes of bacteria, and after subsequent study of their specific regulation of activation and functions, their image has changed from simple curious genetic objects to one of the most important tools. They play a decisive role in bacterial protection and adaptation to unfavorable growth conditions, including microbial persistence and chronic infection processes, formation of antibiotic resistance. It became clear that these small genetic modules, which can be found almost everywhere in the bacterial genomes, have a high potential for biotechnological and biomedical innovation research, as well as the prospect of developing fundamentally new antibacterial technologies. Given the leading role of TAS for the survival of pathogenic bacteria and the development of the infectious process, modern technologies for creating alternative antibacterial strategies consider these systems to be promising targets for the development of new antimicrobial agents.

*Keywords:* toxin-antitoxin system, antibacterial resistance, antibiotic therapy, alternatives.

## Введение

Современные достижения в области геномного секвенирования и биоинформатики нового поколения выявили высокую распространённость бактериальных токсин-антитоксиновых систем (ТАС), что послужило мощным стимулом для активизации глубоких исследований этих уникальных белковых структур [1–4]. Гены, кодирующие ТАС, были впервые идентифицированы в 80-х годах XX в. Ogura T. и Hiraga S. (1983) на

мини-F-плазмиде *Escherichia coli* как важные генетические элементы, ответственные за поддержание и стабильность плазмиды в дочерних клетках [5–7]. Бактериальные клетки были «зависимыми» от присутствия этих плазмид, и поэтому ТАС назвали «модулями зависимости» [7–9].

Дальнейшие исследования [2, 10–13] показали, что плазмидные гены ТАС играют важнейшую роль не только в кодировании систем постсегрегационного убийства дочерних клеток, потерявших плазмиду, но и в формировании антибиотикорезистентности. Установлено, что они принимают активное участие в образовании биоплёнок, могут переноситься горизонтально, придавая патоген-

© Коллектив авторов, 2018

Адрес для корреспонденции:  
E-mail: andrukov\_bg@mail.ru

ным бактериям множественную лекарственную устойчивость и вирулентность [2, 13–16].

В течение последнего десятилетия были охарактеризованы структуры и функции большого количества бактериальных ТАС. Впоследствии гены, кодирующие ТАС, были обнаружены и на хромосомах (впервые идентифицированы в *Escherichia coli*) [5, 6]. Они активируются в ответ на различные стрессовые условия роста бактерий, такие как дефицит питательных веществ, действие антибиотиков, бактериофагов и компонентов иммунной защиты, окислительный стресс и высокая температура [4, 13].

Например, установлено, что хромосомный генетический модуль ТАС *mazEF*, кодирующий антитоксин *mazE* и токсин *mazF*, играет главную роль в опосредовании запрограммированной гибели бактериальных клеток в условиях голодания и при дефиците питательных веществ [10, 11]. В последующие годы было обнаружено, что эти системы выполняют разнообразные клеточные функции: ингибирование синтеза белка, репликация ДНК в ответ на возникновение неблагоприятных условий роста, защита бактерий от бактериофагов (абортная инфекция) [1–3, 17].

Цель обзора — на основе анализа результатов последних фундаментальных исследований о структурах и функциях ТАС оценить их потенциал для биотехнологических и биомедицинских инновационных разработок, развития принципиально новых антибактериальных стратегий.

**Генетические модули ТАС.** Известно, что генетические модули, ответственные за экспрессию ТАС, содержат пару родственных генов. Эти модули кодируют стабильный токсин, влияющий на жизненно важные процессы в бактериальной клетке, такие как транскрипция, трансляция, репликация ДНК и мембранный гомеостаз, а также лабильный антитоксин, ингибирующий эти эффекты в благоприятных условиях роста путём связывания токсина и образования биологически неактивного комплекса ТАС [10, 11, 14] (рис. 1).

Ранее исследователи ТАС позиционировали их исключительно как клеточные суицидальные факторы [5, 6], однако в настоящее время получило широкое признание ТАС как стресс-реализующей системы. При возникновении неблагоприятных условий для роста бактерий (экологические стрессы, воздействие антибактериальных препара-

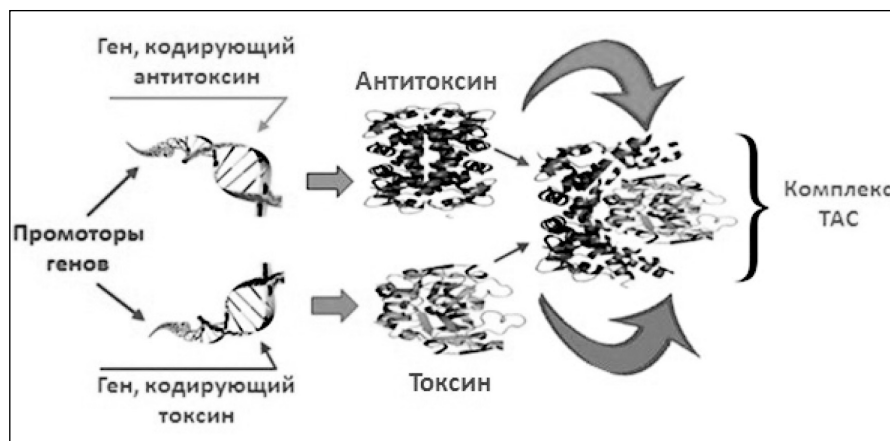


Рис. 1. Образование биологически инертного комплекса ТАС (рис. авторов)

тов) происходит резкое падение уровня нестабильных белков-антитоксинов, главным образом вследствие их деградации цитоплазматическими протеазами, что приводит к активации освобожденного токсина. Белки-токсины, классифицируемые по их клеточным мишеням, влияют на многие различные и физиологически важные клеточные процессы. В частности, некоторые из них, такие как RelE и VarC, ингибируют трансляцию белков путём разрушения РНК, тогда как другие, например, MazF и ToxN, нацелены на клеточную репликацию или целостность мембраны. Эти эффекты, в свою очередь, вызывают либо гибель клеток, либо клеточный стаз [1, 3, 14, 17].

Геномный анализ токсинов различных типов ТАС с последующей экспериментальной валидацией выявили высокий структурный консерватизм, несмотря на различие во внутриклеточных мишенях и механизмах действия [14, 16].

Таким образом, с точки зрения значения для бактерий, роль модулей ТАС в инфекционном процессе может быть как положительной (гибель бактериальных клеток или потеря генетического материала), так и отрицательной (формирование устойчивой антибиотикорезистентности, формирование биоплёнки и персистенция бактерий) [18, 19].

Повсеместное распространение устойчивости к антибиотикам у бактерий стимулирует поиск альтернативных антибактериальных стратегий. Одной из возможных альтернатив является индукция преждевременной активации токсина, что может быть использовано для уничтожения бактериальных клеток. Однако практическая реализация этой антибактериальной стратегии требует понимания механизмов действия компонентов ТАС, исследование их функций.

Так, в исследованиях, проведённых В. Pimentel et al [19] была обнаружена связь ингибирования репликации плазмид R1 *E.coli* и последующего бактерицидного и бактериостатического эффекта вследствие разрушения комплекса ТАС Kid-Kis.

Кроме того, лишённые плазмид бактериальные клетки теряли способность к кодированию группы ферментов  $\beta$ -лактамаз, являющихся ключевыми инструментами, направленными на борьбу с  $\beta$ -лактамами антибиотиками (пенициллины, цефалоспорины и др.) — наиболее широко используемым классом веществ для антимикробной химиотерапии [19]. Резистентность к указанной группе антибиотиков в наши дни является основной клинической проблемой во всем мире [13, 14, 19].

Ранее было показано, что плазмиды, несущие гены, придающие устойчивость энтерококков к ванкомицину, также кодируют и консервативные гомологичные комплексы TAC Kid и Kis [20]. Следовательно, их фармакологическая активация также перспективна в плане альтернативной стратегии индивидуальной терапии против ванкомицинорезистентных энтерококков [14, 19].

**TAC и персистирующие клетки.** Исследования, проведённые в последнее десятилетие, привели к познанию множества процессов, способствующих сохранению бактерий. Учитывая физиологическую сложность бактериальной клетки, представляется правдоподобным, что антибактериальная резистентность может быть результатом модуляции различных клеточных процессов, связанных с толерантностью. В связи с этим, другим механизмом формирования антибактериальной резистентности, имеющим зависимость от модулей TAC, является образование устойчивых к антибиотикам персистирующих (дремлющих) клеток [21–25]. Эти открытия стали основной причиной возрождения интереса к клеткам-персистерам, которые были впервые описаны J. W. Bigger ещё в середине прошлого века [26].

Открытие в середине XX в. пенициллина и других эффективных антибиотиков и их активное использование против инфекционных заболеваний ознаменовало начало новой антибактериальной эры. Появилась уверенность в том, что многие серьёзные инфекции будут легко излечиваться, и вскоре будут полностью ликвидированы. В итоге в течение нескольких десятилетий активность исследований по разработке новых природных антибиотиков постепенно снижалась. Однако вскоре стало очевидным снижение эффективности антибиотикотерапии, что долгое время связывали с быстрым развитием у бактерий лекарственной устойчивости к большинству известных антибиотиков, используемых с клиническими целями.

В наши дни, несмотря на широкий спектр применяемых антибактериальных препаратов, инфекционные заболевания остаются одной из ведущих причин человеческой смертности во всем мире. В значительной степени это связано с нарастающей антимикробной резистентностью патогенов и появлением устойчивых к традиционной химиотерапии микроорганизмов, что становится гло-

бальным вызовом и одной из основных проблем для общественного здравоохранения.

Развитие бактериальной резистентности к антибиотикам в течение длительного времени рассматривалось в качестве основной причины клинических неудач. Однако в последнее время были выявлены и менее очевидные факторы. Например, бактерии формируют клеточные капсулы и многоклеточные биоплёнки, которые способны защищать их от бактерицидных эффектов антибиотиков. Кроме того, были открыты и более сложные клеточные стратегии, с помощью которых бактериям удаётся уклониться от действия антибиотиков. Это стратегии связаны с тем, что популяции бактерий, чувствительных к данному антибиотику, почти всегда содержат медленно растущие или персистирующие клетки, устойчивые к данному антибактериальному препарату [27–29].

Эффективность антибактериального механизма действия большинства антибиотиков зависит от физиологического состояния бактерий — медленно растущие бактерии, как правило, менее чувствительны к антимикробным препаратам [28, 30], а на клетки-персистеры антибиотики обычно не влияют [28, 31, 32].

На рубеже XX и XXI вв. была высказана гипотеза, согласно которой в одной популяции бактерий могут быть несколько типов клеток-персистеров, каждый из которых имеет чёткие механизмы для уклонения от бактерицидных эффектов антибиотиков [33]. Успехи молекулярной биологии и генетики в изучении функционирования комплексов TAC позволили проверить эту гипотезу и помочь в выяснении механизмов формирования бактериальной персистенции в модели антибактериальной устойчивости. В персистирующей микробной клетке под действием токсинов подавляются ключевые клеточные процессы, такие как репликация ДНК и трансляция белка. Это ингибирование приводит к быстрой остановке роста и резкому снижению метаболической активности, формированию частичной или полной резистентности к антибиотикам, делает их устойчивыми к большинству антибактериальных средств [17, 22–25, 34]. После прекращения действия лекарственных препаратов дремлющие клетки вновь возвращаются в активное состояние. В результате бактериальная персистенция представляет собой гетерогенную популяцию фенотипически резистентных к антибиотикам и другим экологическим стрессам клеток [17, 34, 35]. Таким образом, бактериальная персистенция является серьёзным препятствием для эффективного лечения антибиотиками при многих инфекционных заболеваниях. При этом персистирующая клетка имеет физиологические отличия от антибиотикорезистентных мутантов, размножающихся в присутствии антибиотиков [21–23]. Для

понимания решающей роли ТАС в регуляции персистенции бактерий необходимо более детальное освещение структуры и функции этих систем.

**Структура и функция ТАС.** К настоящему времени охарактеризованы шесть типов ТАС в зависимости от характера антитоксина и способа взаимодействия токсина с антитоксином [3, 36–39] (рис. 2, 3). Во всех типах токсины представляют собой белки, тогда как антитоксины в системах ТАС типа I и III представляют собой молекулы РНК, а в системах ТАС II, IV–VI — белки. В системах типа I антитоксин подавляет активность белка токсина путём связывания мРНК, тогда как в системах типа II и III ТАС (рис. 2, а, б, в) токсинные белки блокируются прямым связыванием антитоксина с токсинами, соответственно [12, 15, 40]. В ТАС IV типа (рис. 3, а) белок антитоксина предотвращает активность токсина путём связывания с субстратом и, наконец, в системах типа V, антитоксина вызывает специфическую деградацию мРНК токсина (рис. 3, б) [41, 42]. В сравнительно недавно открытом VI типе ТАС [43, 44] белок-токсин деградируется клеточными протеазами, а антитоксин связывается с белками скользящего зажима, являющимися компонентом ДНК-полимеразы (рис. 3, в) [45].

В зависимости от типа ТАС, активация входящего в них токсина способна привести к замедлению роста бактерий или полной остановке клеточного цикла, что часто наблюдается в неактивных персистирующих клетках [2, 23, 42, 46]. Гибель клеток, вызванная чрезмерной экспрессией токсина, может принести пользу всей бактериальной популяции, осо-

бенно в условиях ограниченных питательных ресурсов. При появлении благоприятных условий происходит экспрессия антитоксина, нейтрализующего вирулентность токсина, и бактерии-перси-

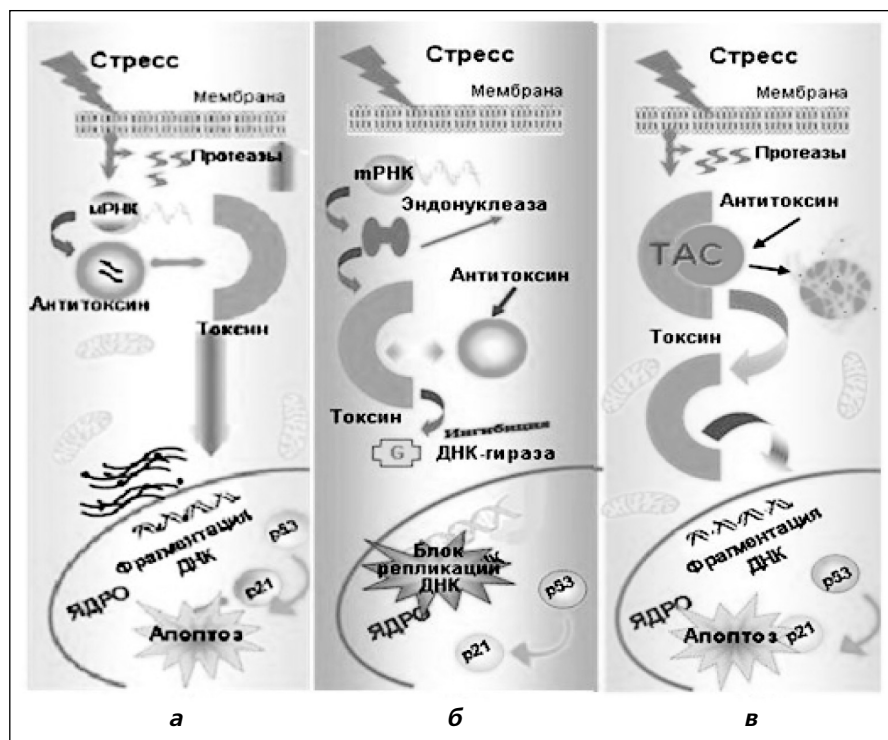


Рис. 2. Схема регуляторного механизма токсин-антитоксических систем (ТАС) I (а) [12], II (б) [15] и III (в) [40] типов (рис. авторов)

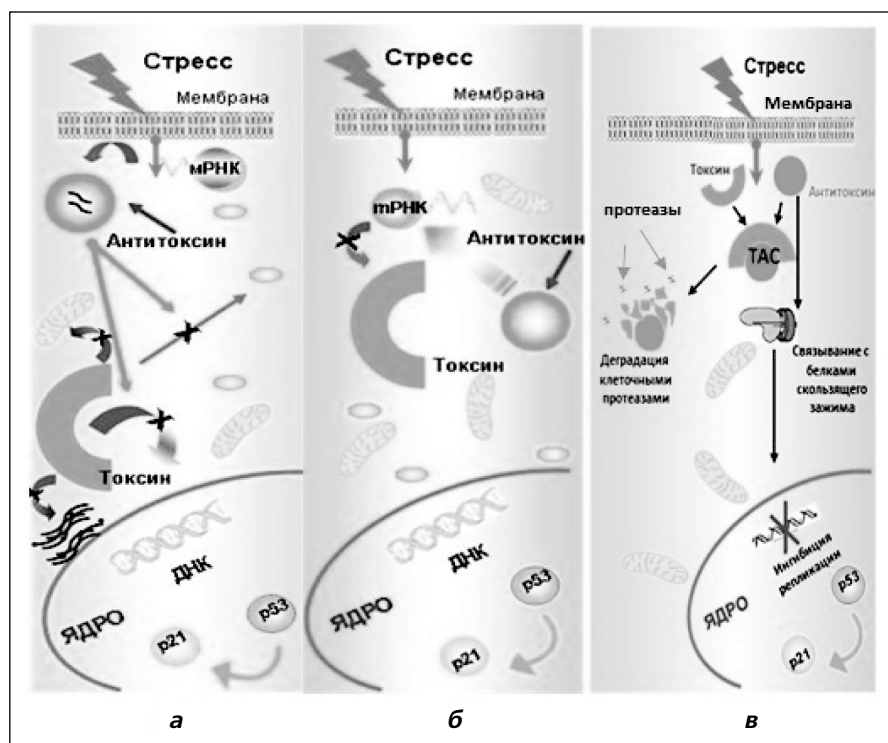


Рис. 3. Схема регуляторного механизма токсин-антитоксических систем (ТАС) IV (а) [41], V (б) [42] и VI (в) [45] типов (рис. авторов)

### Механизмы действия токсинов некоторых токсин-антитоксिन-систем

Типы ТАС	Модуль ТАС	Токсин	Антитоксин	Активирует токсин	Ингибирует токсин	Источник
I	sibC-ibsC	IbsC	sibC (РНК)	Деполаризация клеточной мембраны	Синтез АТФ	[69], [70]
I	istR-tisB	TisB	istR (РНК)	Деполаризация клеточной мембраны	Синтез АТФ	[71], [72]
II	mazEF	MazF	MazE (белок)	Расщепление мРНК	Перемещение	[73]
II	kis-kid	Kis	Kid (белок)	Расщепление мРНК	Перемещение	[74]
III	toxIN	ToxN	toxI (РНК)	Расщепление РНК	Перемещение	[75]
IV	yeeUV	YeeV	YeeU (белок)	Взаимодействие с белками цитоскелета FtsZ и MreB	Взаимодействие с отделами клеток	[41]
IV	cptBA	CptA	CptB (protein)	Взаимодействие с белками цитоскелета FtsZ и MreB	Взаимодействие с отделами клеток	[41]
V	ghoST	GhoT	GhoS (protein)	Повреждение клеточной мембраны	Нет данных	[42]
VI	socAB	SocB	SocA (protein)	Повреждение клеточной мембраны	Репликация	[45]

стеры вновь восстанавливают количественные характеристики роста [47, 48].

Эта важнейшая функция ТАС в последующем была многократно подтверждена результатами исследований патогенности бактерий, способных к длительной персистенции. Например, *Mycobacterium tuberculosis* содержат более 30 оперонов, кодирующих пять типов ТАС, тогда как его непатогенный аналог, более быстро растущий *Mycobacterium smegmatis*, имеет три аналогичных оперона [49—51]. Этот физиологический феномен получил название бактериальной персистенции, и приведённый пример показывает, что это явление имеет универсальный характер и свойственно как патогенным бактериям, так и сапрофитам [17, 52].

Последующие исследования молекулярно-генетических механизмов антимикробной резистентности персистенции на моделях *Escherichia coli* [22, 53—55] и *Salmonella enterica* [23, 56] позволили установить их связь с протеином высокой стойкости А (HrpA), кодируемым одним из локусов ТАС I и II типа вызывающего деградацию антитоксина и индукцию временной остановки роста бактериальной клетки, и выживание персистирующих клеток внутри макрофагов [55, 56]. Наиболее хорошо охарактеризованы модули ТАС I типа на моделях *Escherichia coli* [12, 57].

Как уже указывалось, впервые эти модули были обнаружены на плазмиде (sok-hok) [57], где они были транскрибированы в две небольшие РНК: кодирующие токсин (РНК I) и антитоксин (РНК II). Токсин Нок модуля sok-hok принимает участие в регулировании скорости роста бактерий при стрессе, вызванном ухудшением параметров окружающей среды (высокая температура и антибиотикотерапия) [57]. Кроме того, в *E.coli* были обнаружены и хромосомные ТАС I типа (ohsC-shoB) [58], istR-tisB [59], rdID-ldrD [60], agrB-dinQ [61], sibC-ibsC [58], orzO-zorO [62] и symR-symE [63].

Другой механизм формирования антибиотикорезистентности связан с участием ТАС в формировании патогенными бактериями биоплёнок,

позволяющим противостоять антибактериальным препаратам и иммунной системе организмов-хозяев [38, 42, 46, 61]. Бактерии в составе биоплёнок имеют более низкие темпы роста клеток по сравнению с планктонными формами, а также экспрессируют специфические токсины различных типов модулей ТАС, регулирующих образование полимерного матрикса [64—68].

Таким образом, роль токсинов ТАС в модуляции метаболической активности, роста клеток и формировании антибиотикорезистентности зависит от связывания с определёнными молекулярно-генетическими внутриклеточными структурами, а механизмы формирования антибиотикорезистентности имеют специфические особенности в зависимости от типа токсин-антитоксिन-модулей. Некоторые из охарактеризованных ТАС и механизмы действия токсинов приведены в таблице.

В опероне ген токсина транскрибируется на низком уровне и кодируется как относительно нестабильный короткоживущий белок. Высокоуровневая транскрипция антидот-гена в клетках, обеспечивает неактивное состояние токсина [12, 23, 77, 78].

**ТАС в качестве перспективных антибактериальных мишеней.** Снижение эффективности современных противомикробных средств требует изучения механизмов появления резистентности множественных лекарственно-устойчивых штаммов микроорганизмов, а также активизации разработки новых стратегий создания противомикробных средств для борьбы с инфекциями, поиска принципиально иных антибактериальных внутриклеточных мишеней для терапии. Это является основным направлением современных научных исследований [35, 51, 67, 78—80].

В последнее десятилетие ТАС привлекают большое внимание в качестве перспективных антибактериальных мишеней [81—84]. В процессе эволюции человеческие патогены развили множество ТАС для защиты от стресса, неблагоприятных условий роста в организме-хозяине, и том числе, от антибиотикотерапии. Одной из мощ-

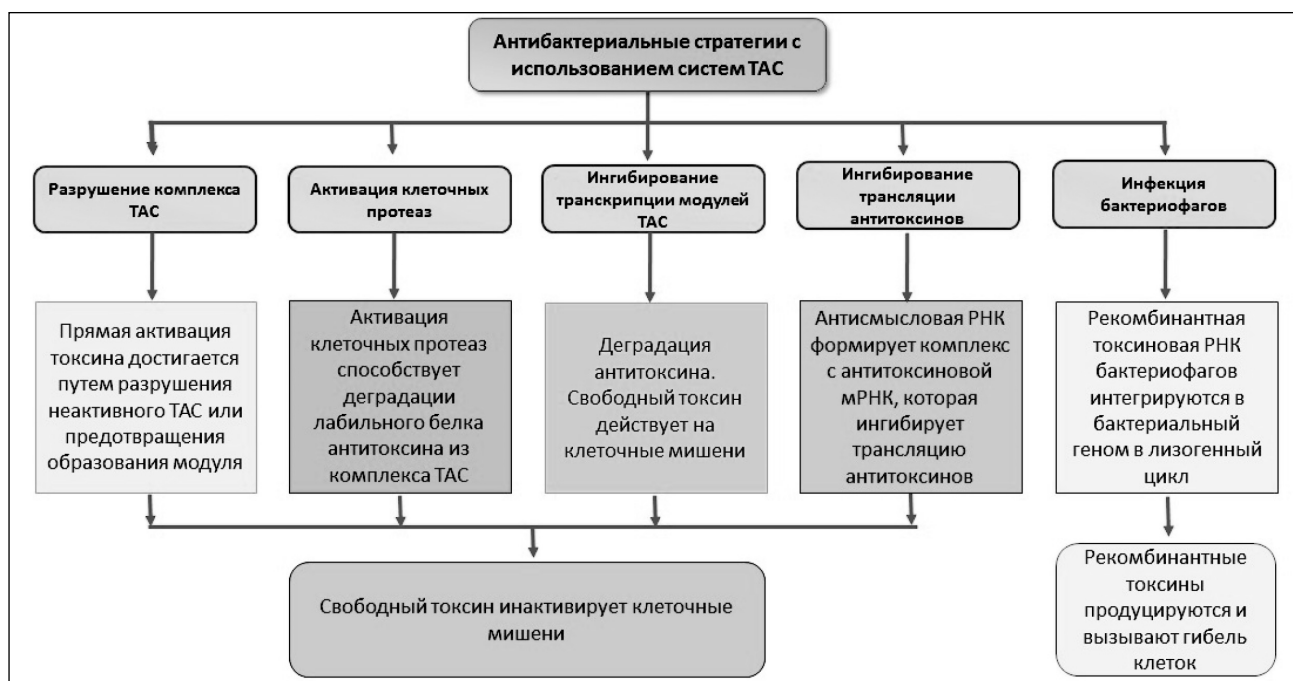


Рис. 4. Перспективные антибактериальные стратегии с использованием ТАС (рис. авторов)

ных антибактериальных стратегий является искусственная активация токсина, которая может быть достигнута с использованием небольших соединений или пептидов в качестве ингибиторов токсин-антитоксिनного взаимодействия. Однако антибактериальные терапевтические средства для целевого воздействия на ТАС пока отсутствуют [3, 36, 67].

В настоящее время рассматривается ряд антибактериальных стратегий, основанных на использовании ТАС (рис. 4). Одна из них связана с разрушением комплекса ТАС, с последующей прямой активацией освобожденного токсина или ингибированием образования комплекса. Это достигается путём введения биомолекул для связывания с антитоксином [85]. Другая стратегия связана с активацией клеточных протеолитических ферментов (гидролаз), вызывающих дегградацию лабильного белка антитоксина из комплекса ТАС путём расщепления пептидной связи между аминокислотами, в результате чего происходит высвобождение токсина [51, 60]. Еще один путь прямой активации освобожденного токсина связан с ингибированием транскрипции промотора оперона ТАС [38, 59]. Оставшийся без пополнения, короткоживущий антитоксин вскоре деградирует, а свободный токсин инактивирует соответствующие мишени в бактериальных клетках. Три упомянутые выше стратегии используют модули ТАС типа II, которые обнаруживаются у большого количества бактерий [35, 59, 60, 85].

Наконец, возможно фармацевтическое ингибирование трансляции антитоксинов [37, 58, 86]. Антисмысловая РНК комплементарно связыва-

ется с антитоксिनной мРНК, что ингибирует трансляцию антитоксинов и высвобождение токсина. Такой подход может быть применён ко всем типам модулей ТАС. Таким образом, в основе перечисленных выше стратегий лежит высвобождение свободного токсина, инактивирующего в дальнейшем внутриклеточные мишени бактериальных клеток и в конечном итоге вызывающего их гибель (рис. 4).

Казалось бы, препараты, содержащие биомолекулы токсина, — реальные кандидаты на роль терапевтического средства для пополнения антимикробного арсенала при формировании у бактерий множественной антибиотикорезистентности. Однако клинические испытания биомолекулярных препаратов выявили серьёзные препятствия для их практического использования: отсутствие лекарственных форм для орального применения и высокую стоимость препаратов [36, 59]. Кроме того, остаются нерешёнными вопросы целевой доставки токсинов в места обитания патогенных бактерий в организме без вредного воздействия на эукариотические клетки и нормальную микробиоту человека [35, 59, 60, 85].

И, наконец, ещё одна, более сложная стратегия предусматривает инфицирование патогенов бактериофагами, содержащими рекомбинантные нуклеиновые кислоты, содержащие ген, кодирующий биосинтез токсина: РНК или ДНК интегрируются в лизогенный цикл генома патогенной бактерии, продуцируемые рекомбинантные токсины вызывают гибель бактериальных клеток [87]. К настоящему времени получены рекомбинантные нуклеиновые кислоты, содержащие раз-

личные гены, кодирующие синтез токсинов многих известных модулей ТАС. Однако использование бактериофагов по-прежнему ограничено из-за их высокой специфичности к определённым микроорганизмам [31, 87, 88].

Существует опасение, что искусственная активация токсинов до умеренного уровня может вызвать образование персистирующих или спящих клеток, которые способствуют хронизации инфекционного процесса. В этой связи разрабатывается другая стратегия, которая «разбудит» персистирующую бактериальную клетку, что делает её восприимчивой к антибиотикам.

## Заключение

Таким образом, с учётом ведущей роли ТАС для выживания патогенных бактерий и развития инфекционного процесса современные технологии создания альтернативных антибактериальных стратегий рассматривают эти системы в качестве перспективных целей для разработки новых антимикробных препаратов. Высокая скорость приобретения патогенными бактериями множественной лекарственной устойчивости определяет актуальность и необходимость этого направления исследований. Учитывая отсутствие

ТАС у млекопитающих, будущие препараты на основе технологий, в основе которых лежат механизмы внутриклеточных эффектов ТАС, могут быть высокоспецифическими. Тем не менее, одним из возможных недостатков эффективности этих антимикробных стратегий является высокая распространённость этих систем в геноме бактерий, что потребует создания препаратов, нацеленные на несколько систем. Другим недостатком является то, что недостаточно просто инактивировать антитоксины для активации токсинов, которые в дальнейшем необходимо инактивировать другими препаратами [31, 36]. Некоторые побочные эффекты этих методов лечения могут быть связаны с инактивацией ТАС бактерий, принадлежащих к нормальной микрофлоре. Тем не менее, стимулирование дальнейших фундаментальных исследований ТАС в патогенных бактериях может дать ценную информацию для будущих антибактериальных альтернатив.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Финансирование.** Работа выполнена при поддержке Комплексной программы фундаментальных исследований Дальневосточного отделения РАН «Дальний Восток», проект № 18-5-099.

## ЛИТЕРАТУРА

1. *Kedzierska B., Hayes F.* Emerging Roles of Toxin–Antitoxin Modules in Bacterial Pathogenesis. *Molecules* 2016; 21. Doi: 10.3390/molecules21060790.
2. *Van Melder L., Saavedra de Bast M.* Bacterial toxin–antitoxin systems: More than selfish entities? *PLoS Genet* 2009; 5: 3: e1000437. Doi: 10.1371/journal.pgen.1000437.
3. *Ki-Young Lee., Bong-Jin Lee.* Structure, Biology, and Therapeutic Application of Toxin–Antitoxin Systems in Pathogenic Bacteria. *Toxins* 2016; 8: 10: 305. Doi:10.3390/toxins8100305.
4. *Goeders N., Chai R., Chen B., Day A. Salmond G.* Structure, Evolution, and Functions of Bacterial Type III Toxin–Antitoxin Systems. *Toxins* 2016; 8: 10: 282. Doi:10.3390/toxins8100282.
5. *Aizenman E., Engelberg-Kulka H., Glaser G.* An *Escherichia coli* chromosomal «addiction module» regulated by guanosine 30,50-bispyrophosphate: a model for programmed bacterial cell death. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 6059–6063.
6. *Ogura T., Hiraga S.* Mini-F plasmid genes that couple host cell division to plasmid proliferation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1983; 80: 4784–4788.
7. *Van Melder L., Bernard P., Couturier M.* Lon-dependent proteolysis of CcdA is the key control for activation of CcdB in plasmid-free segregant bacteria. *Mol Microbiol* 1994; 11: 1151–1157.
8. *Hayes F.* Toxins-antitoxins: Plasmid maintenance, programmed cell death, and cell cycle arrest. *Science* 2003; 301: 1496–1499. Doi: 10.1126/science.1088157.
9. *Yarmolinsky M. B.* Programmed cell death in bacterial populations. *Science* 1995; 267: 836–837.
10. *Engelberg-Kulka H., Glaser G.* Addiction modules and programmed cell death and antideath in bacterial cultures. *Annu. Microbiol Rev* 1999; 53: 43–70. Doi: 10.1146/annurev.micro.53.1.43.
11. *Engelberg-Kulka H., Amitai S., Kolodkin-Gal I., Hazan R.* Bacterial programmed cell death and multicellular behavior in bacteria. *PLoS Genet* 2006; 2: e135. Doi: 10.1371/journal.pgen.0020135.
12. *Erental A., Idith Sh. I., Engelberg-Kulka H.* Two Programmed Cell Death Systems in *Escherichia coli*: An Apoptotic-Like Death Is Inhibited by the mazEF-Mediated Death Pathway. *PLoS biology* 2012; 3: 10: e100128.
13. *Coussens N. P., Daines D. A.* Wake me when it's over—Bacterial toxin-antitoxin proteins and induced dormancy. *Exp Biol Med* 2016; 241: 1332–1342. Doi: 10.1177/1535370216651938.
14. *Muthuramalingam M., White J. C., Bourne C. R.* Toxin-Antitoxin Modules Are Pliable Switches Activated by Multiple Protease Pathways. *Toxins* 2016; 8: 7: 214. Doi:10.3390/toxins8070214.
15. *Makarova K. S., Wolf Y. I., Koonin E.V.* Comprehensive comparative-genomic analysis of type 2 toxin-antitoxin systems and related mobile stress response systems in prokaryotes. *Biol Direct* 2009; 4: 11–19.
16. *Makarova K. S., Wolf Y. I., Koonin E. V.* Comparative genomics of defense systems in archaea and bacteria. *Nucleic Acids Res* 2013; 41: 4360–4377. Doi: 10.1093/nar/gkt157.
17. *Page R., Peti W.* Toxin-antitoxin systems in bacterial growth arrest and persistence. *Nat Chem Biol* 2016; 12: 208–214.
18. *Allison K. R., Brynildsen M. P., Collins J. J.* Heterogeneous bacterial persisters and engineering approaches to eliminate them. *Curr Opin Microbiol* 2011; 14: 593–598. Doi: 10.1016/j.mib.2011.09.002.
19. *Pimentel B., Nair R., Bermejo-Rodriguez C., Preston M. A., Agu C. A., Wang X., Bernal J. A., Sherratt D. J., de la Cueva-Mendez G.* Toxin Kid uncouples DNA replication and cell division to enforce retention of plasmid R1 in *Escherichia coli* cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2014; 111: 2734–2739. Doi: 10.1073/pnas.1308241111.
20. *Moritz E. M., Hergenrother P. J.* Toxin-antitoxin systems are ubiquitous and plasmid-encoded in vancomycin-resistant enterococci. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007; 104: 1: 311–316. Doi: 10.1073/pnas.0601168104.
21. *Holden D.W.* Microbiology. Persisters unmasked. *Science* 2015; 347: 30–32.
22. *Maisonneuve E., Castro-Camargo M., Gerdes K.* (p)ppGpp controls bacterial persistence by stochastic induction of toxin-antitoxin activity. *Cell* 2013; 154: 1140–1150.
23. *Gerdes K., Maisonneuve E.* Remarkable functional convergence: Alarmone ppGpp mediates persistence by activating type I and II toxin-antitoxins. *Mol Cell* 2015; 59: 1–3.
24. *Meredith H. R., Srimani J. K., Lee A. J., Lopatkin A. J., You L.* Collective antibiotic tolerance: Mechanisms, dynamics and intervention. *Nat Chem Biol* 2015; 11: 182–188. Doi: 10.1038/nchembio.1754.
25. *Fasani R. A., Savageau M. A.* Unrelated toxin-antitoxin systems cooperate to induce persistence. *J R Soc Interface* 2015; 12. Doi: 10.1098/rsif.2015.0130.
26. *Bigger J. W.* Treatment of staphylococcal infections with penicillin by intermittent sterilization. *Lancet* 1944; 294: 497–500.
27. *Levin B. R., Rozen D. E.* Non-inherited antibiotic resistance. *Nat Rev Microbiol* 2006; 4: 556–562.
28. *Shan Y., Lazinski D., Rowe S., Camilli A., Lewis K.* Genetic basis of persister tolerance to aminoglycosides in *Escherichia coli*. *mBio* 2015; 6. Doi: 10.1128/mBio.00078-15.

29. Harms A., Maisonneuve E., Gerdes K. Mechanisms of bacterial persistence during stress and antibiotic exposure. *Science* 2016; 354: 6318. pii: aaf4268. Doi: <http://dx.doi.org/10.1101/200477>.
30. Dhar N., McKinney J. D. Microbial phenotypic heterogeneity and antibiotic tolerance. *Curr Opin Microbiol* 2007; 10: 30–38. Doi: [10.1016/j.copbio.2017.12.007](https://doi.org/10.1016/j.copbio.2017.12.007).
31. Liu S., Wu N., Zhang S., Yuan Y., Zhang W., Zhang Y. Variable Persister Gene Interactions with (p)ppGpp for Persister Formation in *Escherichia coli*. *Front Microbiol* 2017; 8: 1795. Doi: [10.3389/fmicb.2017.01795](https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01795).
32. Marques C. N., Morozov A., Planzos P., Zelaya H. M. The fatty acid signaling molecule cis-2-decenoic acid increases metabolic activity and reverts persister cells to an antimicrobial-susceptible state. *Appl Environ Microbiol* 2014; 80: 6976–6991.
33. Spoering A. L., Lewis K. Biofilms and planktonic cells of *Pseudomonas aeruginosa* have similar resistance to killing by antimicrobials. *J Bacteriol* 2001; 183: 23: 6746–6751.
34. Wood T. K. Combatting bacterial persister cells. *Biotechnol Bioeng* 2016; 113: 476–483. Doi: [10.1002/bit.25721](https://doi.org/10.1002/bit.25721).
35. Fisher R. A., Gollan B., Helaine S. Persistent bacterial infections and persister cells. *Nat Rev Microbiol* 2017; 15: 8: 453–464. Doi: [10.1038/nrmicro.2017.42](https://doi.org/10.1038/nrmicro.2017.42).
36. Garland M., Loscher S., Bogyo M. Chemical Strategies To Target Bacterial Virulence. *Chem Rev* 2017; 117: 5: 4422–4461. Doi: [10.1021/acs.chemrev.6b00676](https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.6b00676).
37. Marsan D., Place A., Fucich D., Chen F. Toxin-Antitoxin Systems in Estuarine *Synechococcus* Strain CB0101 and Their Transcriptomic Responses to Environmental Stressors. *Front Microbiol* 2017; 8: 1213. Doi: [10.3389/fmicb.2017.01213](https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01213).
38. Tian C., Semsey S., Mitarai N. Synchronized switching of multiple toxin-antitoxin modules by (p)ppGpp fluctuation. *Nucleic Acids Res* 2017; 45: 14: 8180–8189. Doi: [10.1093/nar/gkx552](https://doi.org/10.1093/nar/gkx552).
39. Harms A., Fino C., Surensen M. A., Semsey S., Gerdes K. Prophages and Growth Dynamics Confound Experimental Results with Antibiotic-Tolerant Persister Cells. *MBio* 2017; 8: 6: pii: e01964-17. Doi: [10.1128/mBio.01964-17](https://doi.org/10.1128/mBio.01964-17).
40. Fineran P. C., Blower T. R., Foulds I. J., Humphreys D. P., Lilley K. S. The phage abortive infection system, toxin, functions as a protein-RNA toxin-antitoxin pair. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009; 106: 894–899.
41. Masuda H., Tan Q., Awano N., Wu K. P., Inouye M. YeeU enhances the bundling of cytoskeletal polymers of MreB and FtsZ, antagonizing the CbtA (YeeV) toxicity in *Escherichia coli*. *Mol Microbiol* 2012; 84: 979–989.
42. Wang X., Lord D. M., Cheng H. Y., Osbourne D. O., Hong S. H. A new type V toxin-antitoxin system where mRNA for toxin GhoT is cleaved by antitoxin GhoS. *Nat Chem Biol* 2012; 8: 855–861.
43. Brooks T. M., Unterwieser D., Bachmann V., Kostiuk B., Pukatzki S. Lytic activity of the *Vibrio cholerae* type VI secretion toxin VgrG-3 is inhibited by the antitoxin TsaB. *J Biol Chem* 2013; 288: 11: 7618–7625. Doi: [10.1074/jbc.M112.436725](https://doi.org/10.1074/jbc.M112.436725).
44. Chan W. T., Espinosa M., Yeo C. C. Keeping the Wolves at Bay: Antitoxins of Prokaryotic Type II Toxin-Antitoxin Systems. *Front Mol Biosci* 2016; 3. Doi: [10.3389/fmolb.2016.00009](https://doi.org/10.3389/fmolb.2016.00009).
45. Aakre C. D., Phung T. N., Huang D., Laub M. T. A bacterial toxin inhibits DNA replication elongation through a direct interaction with the  $\beta$  sliding clamp. *Mol Cell* 2013; 52: 5: 617–628. Doi: [10.1016/j.molcel.2013.10.014](https://doi.org/10.1016/j.molcel.2013.10.014).
46. Wen Y., Behiels E., Devreese B. Toxin-Antitoxin systems: their role in persistence, biofilm formation, and pathogenicity. *Pathog Dis* 2014; 70: 3: 240–249. Doi: [10.1111/2049-632X.12145](https://doi.org/10.1111/2049-632X.12145).
47. Unterholzner S. J., Poppenberger B., Rozhon W. Toxin-antitoxin systems: Biology, identification, and application. *Mob Genet Elements* 2013; 3. Doi: [10.4161/mge.26219](https://doi.org/10.4161/mge.26219).
48. Schuster C. F., Bertram R. Toxin-Antitoxin Systems of *Staphylococcus aureus*. *Toxins (Basel)* 2016; 8: 5: pii: E140. Doi: [10.3390/toxins8050140](https://doi.org/10.3390/toxins8050140).
49. Ramage H. R., Connolly L. E., Cox J. S. Comprehensive functional analysis of *Mycobacterium tuberculosis* toxin-antitoxin systems: implications for pathogenesis, stress responses, and evolution. *PLoS Genet* 2009; 5: 12: e1000767. Doi: [10.1371/journal.pgen.1000767](https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1000767).
50. Sala A., Bordes P., Genevaux P. Multiple toxin-antitoxin systems in *Mycobacterium tuberculosis*. *Toxins* 2014; 6: 1002–1020. Doi: [10.3390/toxins6031002](https://doi.org/10.3390/toxins6031002).
51. Deter H. S., Jensen R. V., Mather W. H., Butzin N. C. Mechanisms for Differential Protein Production in Toxin-Antitoxin Systems. *Toxins (Basel)* 2017; 9: 7: pii: E211. Doi: [10.3390/toxins9070211](https://doi.org/10.3390/toxins9070211).
52. Бухарин О.В. Персистенция бактериальных патогенов как физиологический феномен // *Вестн. Моск. Ун-та. Сер. 16. Биология*. 2008; 1: 6–13.
53. Korch S. B., Henderson T. A., Hill T. M. Characterization of the hipA7 allele of *Escherichia coli* and evidence that high persistence is governed by (p)ppGpp synthesis. *Mol Microbiol* 2003; 50: 4: 1199–1213.
54. Durr T., Vuljic M., Lewis K. Ciprofloxacin causes persister formation by inducing the TisB toxin in *Escherichia coli*. *PLoS Biol* 2010; 8: 2: e1000317. Doi: [10.1371/journal.pbio.1000317](https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1000317).
55. Verstraeten N., Knapen W. J., Fauvart M., Michiels J. Membrane depolarization-triggered responsive diversification leads to antibiotic tolerance. *Microb Cell* 2015; 2: 8: 299–301. Doi: [10.15698/mic2015.08.220](https://doi.org/10.15698/mic2015.08.220).
56. Lobato-Mórquez D., Moreno-Cyrdoba I., Figueroa V., Dnaz-Orejas R., Garcha-del Portillo F. Distinct type I and type II toxin-antitoxin modules control *Salmonella* lifestyle inside eukaryotic cells. *Sci Rep* 2015; 5: 9374. Doi: [10.1038/srep09374](https://doi.org/10.1038/srep09374).
57. Chukwudi C. U., Good L. The role of the hok/sok locus in bacterial response to stressful growth conditions. *Microb Pathog* 2015; 79: 70–79. Doi: [10.1016/j.micpath.2015.01.009](https://doi.org/10.1016/j.micpath.2015.01.009).
58. Sayed N., Nonin-Lecomte S., Rety S., Felden B. Functional and structural insights of a *Staphylococcus aureus* apoptotic-like membrane peptide from a toxin-antitoxin module. *J Biol Chem* 2012; 287: 43454–43463. Doi: [10.1074/jbc.M112.402693](https://doi.org/10.1074/jbc.M112.402693).
59. Sass P., Josten M., Famulla K., Schiffer G., Sahl H. G., Hamoen L., Brotz-Oesterhelt H. Antibiotic acyldepsipeptides activate ClpP peptidase to degrade the cell division protein FtsZ. *Proc Natl Acad Sci USA* 2011; 108: 17474–17479. Doi: [10.1073/pnas.1110385108](https://doi.org/10.1073/pnas.1110385108).
60. Leung E., Datti A., Cossette M., Goodreid J., McCaw S. E., Mah M., Nakhamchik A., Ogata K., El Bakkouri M., Cheng Y. Q. et al. Activators of cylindrical proteases as antimicrobials: Identification and development of small molecule activators of ClpP protease. *Chem Biol* 2011; 18: 1167–1178. Doi: [10.1016/j.chembiol.2011.07.023](https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2011.07.023).
61. Williams J. J., Hergenrother P. J. Artificial activation of toxin-antitoxin systems as an antibacterial strategy. *Trends Microbiol* 2012; 20: 291–298. Doi: [10.1016/j.tim.2012.02.005](https://doi.org/10.1016/j.tim.2012.02.005).
62. Bienstock R. J. Computational drug design targeting protein-protein interactions. *Curr Pharm Des* 2012; 18: 1240–1254. Doi: [10.1111/j.1365-2731.2012.06564.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2731.2012.06564.x).
63. Justice S. S., Hunstad D. A., Cegelski L., Hultgren S. J. Morphological plasticity as a bacterial survival strategy. *Nat Rev Microbiol* 2008; 6: 162–168. Doi: [10.1038/nrmicro1820](https://doi.org/10.1038/nrmicro1820).
64. Mutschler H., Meinhardt A. Epsilon/zeta systems: Their role in resistance, virulence, and their potential for antibiotic development. *J Mol Med* 2011; 89: 1183–1194. Doi: [10.1007/s00109-011-0797-4](https://doi.org/10.1007/s00109-011-0797-4).
65. Zhang Y., Inouye M. RatA (YjgG), an *Escherichia coli* toxin, inhibits 70S ribosome association to block translation initiation. *Mol Microbiol* 2011; 79: 1418–1429. Doi: [10.1111/j.1365-2958.2010.07506.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2010.07506.x).
66. Al Refaii A., Alix J. H. Ribosome biogenesis is temperature-dependent and delayed in *Escherichia coli* lacking the chaperones DnaK or DnaJ. *Mol Microbiol* 2009; 71: 748–762. Doi: [10.1111/j.1365-2958.2008.06561.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2008.06561.x).
67. Hall A. M., Gollan B., Helaine S. Toxin-antitoxin systems: reversible toxicity. *Curr Opin Microbiol* 2017; 36: 102–110. Doi: [10.1016/j.mib.2017.02.003](https://doi.org/10.1016/j.mib.2017.02.003).
68. Dao-Thi M. H., Charlier D., Loris R., Maes D., Messens J., Wyns L., Backmann J. Intricate interactions within the ccd plasmid addiction system. *J Biol Chem* 2002; 277: 3733–3742. Doi: [10.1074/jbc.M105505200](https://doi.org/10.1074/jbc.M105505200).
69. Mok W. W., Patel N. H., Li Y. Decoding toxicity: deducing the sequence requirements of IbsC, a type I toxin in *Escherichia coli*. *J Biol Chem* 2010; 285: 53: 41627–41636. Doi: [10.1074/jbc.M110.149179](https://doi.org/10.1074/jbc.M110.149179).
70. Fozo E. M., Kawano M., Fontaine F., Kaya Y., Mendieta K. S., Jones K. L., Ocampo A., Rudd K. E., Storz G. Repression of small toxic protein synthesis by the Sib and OhsC small RNAs. *Mol Microbiol* 2008; 70: 5: 1076–1093. Doi: [10.1111/j.1365-2958.2008.06394.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2008.06394.x).
71. Vogel J., Argaman L., Wagner E. G., Altuvia S. The small RNA IstR inhibits synthesis of an SOS-induced toxic peptide. 2004; 14: 24: 2271–2276. Doi: [10.1016/j.cub.2004.12.003](https://doi.org/10.1016/j.cub.2004.12.003).
72. Unoson C., Wagner E. G. A small SOS-induced toxin is targeted against the inner membrane in *Escherichia coli*. *Mol Microbiol* 2008; 70: 1: 258–270. Doi: [10.1111/j.1365-2958.2008.06416.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2008.06416.x).
73. Vesper O., Amitai S., Belitsky M., Byrgazov K., Kaberdina A. C., Engelberg-Kulka H., Moll I. Selective translation of leaderless mRNAs by specialized ribosomes generated by MazF in *Escherichia coli*. *Cell* 2011; 147: 1: 147–157. Doi: [10.1016/j.cell.2011.07.047](https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.07.047).
74. Budde P. P., Davis B. M., Yuan J., Waldor M. K. Characterization of a higBA toxin-antitoxin locus in *Vibrio cholerae*. *J Bacteriol* 2007; 189: 491–500. Doi: [10.1128/JB.00909-06](https://doi.org/10.1128/JB.00909-06).
75. Fineran P. C., Blower T. R., Foulds I. J., Humphreys D. P., Lilley K. S., Salmond G. P. The phage abortive infection system, ToxIN, functions as a protein-RNA toxin-antitoxin pair. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009; 106: 3: 894–899. Doi: [10.1073/pnas.0808832106](https://doi.org/10.1073/pnas.0808832106).
76. Aakre C. D., Phung T. N., Huang D., Laub M. T. A bacterial toxin inhibits DNA replication elongation through a direct interaction with the  $\beta$  sliding clamp. *Mol Cell* 2013; 52: 5: 617–628. Doi: [10.1016/j.molcel.2013.10.014](https://doi.org/10.1016/j.molcel.2013.10.014).



77. Brielle R., Pinel-Marie M. L., Felden B. Linking bacterial type I toxins with their actions. *Curr Opin Microbiol* 2016; 30: 114–121. Doi: 10.1016/j.mib.2016.01.009.
78. Brantl S., Jahn N. sRNAs in bacterial type I and type III toxin-antitoxin systems. *FEMS Microbiol Rev* 2015; 39: 3: 413–427. Doi: 10.1093/femsre/fuv003.
79. Crofts T. S., Gasparrini A. J., Dantas G. Next-generation approaches to understand and combat the antibiotic resistome. *Nature Reviews Microbiology* 2017; 15: 422–434. Doi: 10.1038/nrmicro.2017.28.
80. Gupta K., Tripathi A., Sahu A., Varadarajan R. Contribution of the Chromosomal ccdAB Operon to Bacterial Drug Tolerance. *J Bacteriol* 2017; 199:19: pii: e00397-17. Doi: 10.1128/JB.00397-17.
81. Chan W. T., Balsa D., Espinosa M. One cannot rule them all: Are bacterial toxins–antitoxins druggable? *FEMS Microbiol Rev* 2015; 39: 522–540. Doi: 10.1093/femsre/fuv002.
82. Mruk I., Kobayashi I. To be or not to be: Regulation of restriction-modification systems and other toxin-antitoxin systems. *Nucleic Acids Res* 2014; 42: 70–86. Doi: 10.1093/nar/gkt711.
83. Ainele A., Tamman H., Leppik M., Remme J., Horak R. The toxin GraT inhibits ribosome biogenesis. *Mol Microbiol* 2016; 100: 719–734. Doi: 10.1111/mmi.13344.
84. Shapiro S. Speculative strategies for new antibacterials: All roads should not lead to Rome. *J Antibiot* 2013; 66: 371–386. Doi: 10.1038/ja.2013.27.
85. Bienstock R. J. Computational drug design targeting protein-protein interactions. *Curr Pharm Des* 2012; 18: 9: 1240–1254.
86. Solecki O., Mosbah A., Baudy Flo'h M., Felden B. Converting a Staphylococcus aureus toxin into effective cyclic pseudopeptide antibiotics. *Chem Biol* 2015; 22: 329–335. Doi: 10.1016/j.chembiol.2014.12.016.
87. Huys I., Pirnay J. P., Lavigne R., Jennes S., De Vos D., Casteels M., Verbeke G. Paving a regulatory pathway for phage therapy. Europe should muster the resources to financially, technically and legally support the introduction of phage therapy. *EMBO Rep* 2013; 14: 951–954. Doi: 10.1038/embor.2013.163.
88. Helaine S., Cheverton A. M., Watson K. G., Faure L. M., Matthews S. A., Holden D. W. Internalization of Salmonella by macrophages induces formation of nonreplicating persisters. *Science* 2014; 343: 204–208.

#### СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

*Андрюков Борис Георгиевич* — д.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной эпидемиологии и микробиологии НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г. П. Сомова, Владивосток

*Беседнова Наталья Николаевна* — академик РАН, д. м. н., профессор, главный научный сотрудник лаборатории

иммунологии НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г. П. Сомова, Владивосток

*Запорожец Татьяна Станиславовна* — д. м. н., заместитель директора по научной работе НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г. П. Сомова, Владивосток